

Aus der  
Kinderklinik und Kinderpoliklinik  
im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
der Ludwigs-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Charakterisierung von Coronavirusinfektionen Typ 229E  
und Untersuchung der Beteiligung von  
Parainfluenzavirus 1-3, Respiratory Syncytial Virus und Adenovirus  
bei Kindern mit akuten Atemwegserkrankungen

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von  
Bernhard Rozée

aus  
Berlin-Neukölln

Jahr  
2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Fr. PD Dr. med. A. Pohl-Koppe

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. J. Eberle

Prof. Dr. med. J. Bogner

Prof. Dr. med. T. Löscher

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 08.11.2007

## **Inhaltsverzeichnis**

	Seite
<b>1. Einleitung und Ziel der Arbeit</b>	<b>9</b>
1.1 Die akute virale Atemwegsinfektion	9
1.2 Ziel der Arbeit	14
<b>2. Hauptmerkmale der untersuchten respiratorischen Viren</b>	<b>15</b>
2.1 Allgemeine Virologie – Historie und Einteilung	15
2.2 Spezielle Virologie	16
2.2.1 Respiratory Syncytial Virus, Parainfluenzavirus 1-3, Adenovirus	16
2.2.1.1 Respiratory Syncytial Virus (RSV)	16
2.2.1.2 Parainfluenzavirus 1-3 (PIV 1-3)	17
2.2.1.3 Adenovirus (Adeno)	18
2.2.2 Humanes Coronavirus (HCoV)	19
2.2.2.1 Klassifikation von HCoV	19
2.2.2.2 Struktur und Aufbau von HCoV	21
2.2.2.3 Replikationszyklus von HCoV	23
2.2.2.4 Pathomechanismus von HCoV	23
2.2.2.5 Immunreaktion beim Wirt	24
2.2.2.6 Epidemiologie und Klinik von HCoV	26
2.2.2.6.1 Epidemiologische Daten	26
2.2.2.6.2 HCoV und OAW-Infektion	27
2.2.2.6.3 HCoV und UAW-Infektion	29
2.2.2.6.4 HCoV und Asthma	30
2.2.2.6.5 Weitere mit HCoV assoziierte Erkrankungen	30
2.2.2.7 Diagnostische Methoden der HCoV-Infektion	31
2.2.2.7.1 Zellkultur	31
2.2.2.7.2 Elektronenmikroskopie	32
2.2.2.7.3 Direkter Virusantigen-Nachweis	32
2.2.2.7.4 Molekulare Nachweismethoden	32
2.2.2.7.5 Serologische Methoden/Ak-Nachweis	33

<b>3.</b>	<b>Material und Methode</b>	34
3.1	Material	34
3.1.1	Studienpopulation für den IgM-Ak-Nachweis gegen RSV, PIV 1-3 und Adenovirus	34
3.1.2	Studienpopulation für den Nachweis von Antikörpern gegen HCoV	37
3.2	Methode	39
3.2.1	Virologisches Testmaterial und Reagentien	39
3.2.2	Virologische Analysemethode	40
3.2.2.1	Herstellung des indirekten IFT gegen HCoV 229E	41
3.2.2.1.1	Kultivierung MRC-5 Zellen	41
3.2.2.1.2	Einfrieren der MRC-5 Zellen	42
3.2.2.1.3	Viruskultivierung und Virustiterbestimmung	42
3.2.2.1.4	Herstellung der Objektträger für den indirekten IFT	44
3.2.2.2	Durchführung Indirekter IFT gegen HCoV 229E	44
3.2.2.2.1	Prüfung der Testtauglichkeit der hergestellten Objektträger	44
3.2.2.2.2	Anwendung des indirekten IFT	45
3.2.2.2.2.1	Nachweis von IgG-Ak gegen HCoV 229E	45
3.2.2.2.2.2	Nachweis von IgM-Ak gegen HCoV 229E	45
3.2.2.2.3	Beurteilung der Testergebnisse	46
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	47
4.1	Respiratorische Viren Adeno, RSV, PIV 1-3	47
4.1.1	Virale IgM-Ak-Nachweise bei den Patienten der Studienpopulation	47
4.1.2	Patienten mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen	49
4.1.3	Gesamtheit der ermittelten IgM-Ak-Nachweise in der Studienpopulation	51
4.1.4	Darstellung der viralen IgM-Ak-Nachweise in Abhängigkeit des Alters	52
4.1.5	Ergebnisse des indirekten IFT bei den einzelnen Diagnosegruppen	56
4.1.5.1	Häufigkeit der IgM-Ak-Nachweise in den einzelnen Diagnose- gruppen	56

4.1.5.2	Virusspezifische IgM-Ak-Nachweise in den einzelnen Diagnosegruppen	57
4.1.6	Jahreszeitliche Verteilung der viralen IgM-Ak Nachweise	61
4.2	HCoV 229E	63
4.2.1	Durchseuchungsrate der pädiatrischen Patienten mit HCoV 229E	63
4.2.2	Patienten mit mehrfachen Serumprobenentnahmen während des Studienzeitraums	65
4.2.2.1	Serokonversion zu einem positiven HCoV 229E IgG-Ak-Status	65
4.2.2.2	Serokonversion zu einem negativen HCoV 229E IgG-Ak-Status	66
4.2.3	Patienten mit akuter HCoV 229E-Infektion	67
4.2.3.1	Jahreszeitliche Verteilung der akuten HCoV 229E Infektionen	67
4.2.3.2	Patientendaten und Krankheitsverlauf	68
4.2.3.2.1	Patientendaten der HCoV 229E IgM-Ak positiven Patienten	68
4.2.3.2.2	Aufnahmeart, stationäre Aufenthaltsdauer sowie Aufnahmediagnosen der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	69
4.2.3.2.3	Symptome und Befunde der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	71
4.2.3.2.4	Röntgen Thorax- und Labor-Befunde sowie Entlassungsdiagnosen der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	73
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	76
5.1	Verwendetes Testverfahren	76
5.2	Adenovirus, RSV, PIV 1-3	78
5.2.1	Allgemeine Beteiligung der Viren des Respirationstraktes – PIV 1-3, RSV, Adenovirus – an den akuten AW-Infektionen bei Kindern	78
5.2.1.1	Beteiligung der Viren des Respirationstraktes an OAW-Infektionen	80
5.2.1.2	Beteiligung der Viren des Respirationstraktes an UAW-Infektionen	81
5.2.2	Spezielle Beteiligung der einzelnen Viren des Respirationstraktes – PIV 1-3, RSV, Adenovirus – an den akuten AW-Infektionen bei Kindern	83
5.2.2.1	Beteiligung von PIV 1-3 an den akuten respiratorischen Infektionen	83
5.2.2.2	Beteiligung von RSV an den akuten respiratorischen Infektionen	85

5.2.2.3	Beteiligung von Adenoviren an den akuten respiratorischen Infektionen	86
5.2.3	Virale IgM-Ak-Nachweise innerhalb einzelner Diagnosegruppen	88
5.2.4	Patienten mit mehrfachen viralen IgM-Ak-Nachweisen	90
5.2.5	Geschlechtsverteilung der Studienpopulation	94
5.2.6	Jahreszeitliche Verteilung der akuten viralen respiratorischen Infektionen	94
5.3	HCoV 229E	97
5.3.1	Durchseuchungsrate der pädiatrischen Patienten mit HCoV 229E	98
5.3.2	Patienten mit akuter HCoV 229E-Infektion	100
5.3.3	Altersdurchschnitt, Geschlechtsverteilung und jahreszeitliches Auftreten der akuten HCoV 229E-Infektion	102
5.3.4	Klinik und Verlauf bei den HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	104
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	109
6.1	PIV 1-3, RSV, Adeno	109
6.2	HCoV 229E	111
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	113

## **Tabellen- und Abbildungsverzeichnis**

### **Abbildungen:**

	Seite
Abbildung 1: Anatomische Einteilung der Atemwege mit den entsprechenden Leitsymptomen einer akuten Infektion des jeweiligen AW-Abschnitts	10
Abbildung 2: RSV (EM-Bild); große Aufnahme: Virusbudding von RSV; kleine Aufnahme: einzelne RS-Virionen	16
Abbildung 3: PIV (EM-Bild)	17
Abbildung 4: Adenovirus (Schemazeichnung)	18
Abbildung 5: Adenoviren (EM-Bild)	18
Abbildung 6: Übersicht RNA-Viren von Eukaryonten	19
Abbildung 7: Verschiedene Serogruppen von CoV	20
Abbildung 8: CoV (EM-Bild)	22
Abbildung 9: Diagnosenverteilung der Studienpopulation für PIV 1-3, RSV und Adenovirus	35
Abbildung 10: Diagnosenverteilung der HCoV-Studienpopulation	38
Abbildung 11: Ergebnisse der Virusdiagnostik bei der Studienpopulation	47
Abbildung 12: Anzahl der virusspezifischen IgM-Ak-Nachweise bei Patienten mit Einfach-IgM-Ak-Nachweisen und mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen	49
Abbildung 13: Verteilung der 723 virusspezifischen IgM-Ak-Nachweise	52
Abbildung 14: Anteil der virusspezifischen IgM-Ak-positiven Patienten nach Alter	54
Abbildung 15: Ergebnisse der Virusdiagnostik bei den Patienten der einzelnen Diagnosegruppen	56
Abbildung 16: IgM-Ak-Nachweise pro Diagnosegruppe	59
Abbildung 17: Jahreszeitliche Verteilung der IgM-Ak-Nachweise	62
Abbildung 18: IgG-Ak-Nachweise gegen HCoV 229E in den einzelnen Altersgruppen	64
Abbildung 19: Jahreszeitliche Verteilung der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	67

**Tabellen:**

Tabelle 1:	Vergleich der klinischen Symptomatik von HCoV 229E, Rhinovirus und Influenzavirus Typ A	28
Tabelle 2:	Ermittlung der Viruskonzentration von HCoV 229E durch Bestimmung der Mortality Ratio (MR) auf einer 96-well-Platte	43
Tabelle 3:	Ergebnisse der Virusdiagnostik im Studienjahr 1992 und 1993	48
Tabelle 4:	Kombinationen viraler IgM-Ak bei den Patienten mit mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen	51
Tabelle 5:	Altersabhängige Verteilung aller IgM-Ak-Nachweise bei der Studienpopulation	53
Tabelle 6:	Altersbezogene HCoV 229E-IgG-Ak-Nachweise im Jahr 1992 und 1993	64
Tabelle 7:	Alters- und Geschlechtsverteilung der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	68
Tabelle 8:	Aufenthaltsform und -dauer sowie Aufnahmediagnose der Patienten mit positivem HCoV 229E-IgM-Ak-Nachweis	69
Tabelle 9:	Symptome und Befunde der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	71
Tabelle 10:	Labor- und Röntgen Thorax-Befunde sowie Entlassungsdiagnosen der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten	74



## **Abkürzungsverzeichnis**

Abb.	Abbildung
Adeno	Adenovirus
Ak	Antikörper
AW-Infektion	Atemwegs-Infektion
CF	Cystische Fibrose
CoV	Coronavirus
CRP	C-reaktives Protein
CVLP	Coronavirus like particle
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EM-Bild	Elektronenmikroskopisches Bild
FCS	Fetal calf serum
FITC	Fluorescein Isothiocyanate
HCoV 229E	Humanes Coronavirus Serotyp 229E
HCoV OC43	Humanes Coronavirus Serotyp OC43
HECV	Human Enteric Coronavirus
Hep. C	Hepatitis C
HIV	Human Immundeficiency Virus
IFT	Immunfluoreszenztest
IgA, -G, -M	Immunglobulin A, G, M
IIFT	indirekter Immunfluoreszenztest
Inf. Krampf.	Infektbedingter Krampfanfall
K-Medium	Kultur-Medium
kb	kilo Basen
kD	kilo Dalton
KMT	Knochenmarkstransplantation
Kopfsz.	Kopfschmerz
LD 50	Letale Dosis 50

MEM	minimum essential medium
m.o.i.	multiplicity of infection
MR	mortality ratio
MS	Multiple Sklerose
m:w	männlich zu weiblich
n.d.	nicht durchgeführt
OAW-Infektion	Obere Atemwegsinfektion
OT	Objektträger
PBS	phosphate buffered saline
PCR	polymerase chain reaction
PIV 1-3	Parainfluenzavirus Typ 1,2 und 3
red. AZ	Reduzierter Allgemeinzustand
RF	Rheumafaktor
RNA	ribonucleic acid
rpm	round per minute
RSV	Respiratory Syncytial Virus
rt-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
SCID	severe combined immunodeficiency syndrome
SCoV	SARS-auslösender Coronavirus
Schw. Allg.	Schwere Allgemeinerkrankung
Bronch.	Bronchitis
Tachyp.	Tachypnoe
TCID 50	tissue culture infectious dose 50
TF-Röt.	Trommelfell-Rötung
UAW-Infektion	Untere Atemwegsinfektion
UK-Tu	Unterkiefer-Tumor
vert.	vertikal

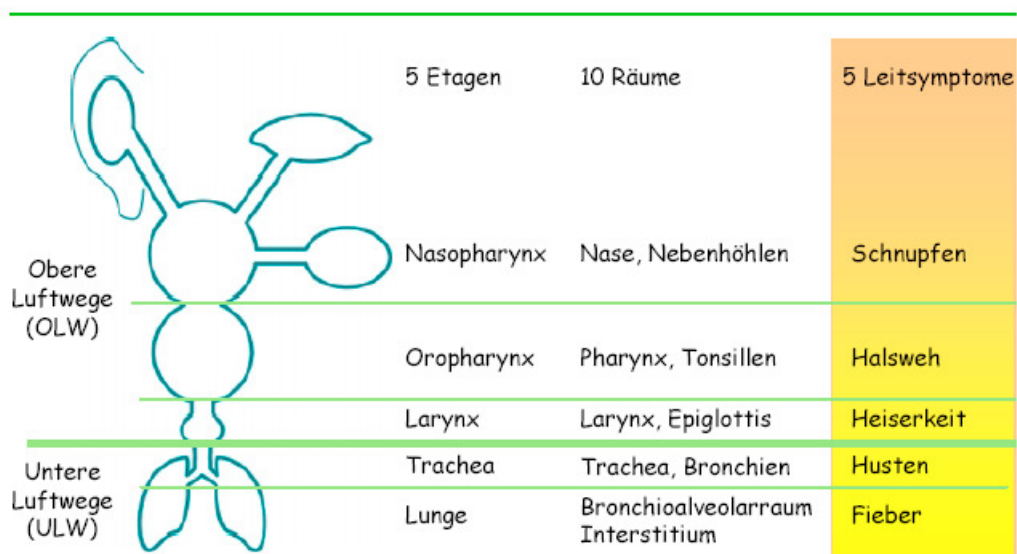
## **1. Einleitung:**

### **1.1 Die akute virale Atemwegsinfektion**

Akute Infektionen des Respirationstraktes stellen die weitaus häufigsten Infektionskrankheiten des Menschen dar (Kaiser et al. 1999) und sind weltweit die Haupttodesursache bei Kindern unter 5 Jahren (Campbell 1995). Im Durchschnitt macht jeder Erwachsene etwa 2-5 respiratorische Erkrankungen pro Jahr durch (Braun et al. 1999), Kinder im Vorschulalter sogar 4-8 Erkrankungen pro Jahr. In den Entwicklungsländern sterben jährlich ca. 4 Millionen Kinder an den Folgen einer akuten respiratorischen Infektion (Denny 1986, Berman 1991). Zudem sind Erkrankungen des Respirationstraktes von großer volkswirtschaftlicher Bedeutung, da sie den häufigsten Grund für Absenzen an Arbeitsplatz und Schule bilden und zudem enorme Behandlungskosten resultieren. So stellten 1995 obere Atemwegsinfektionen (OAW-Infektionen) in den USA mit mehr als 37 Millionen Arztbesuchen die häufigste Ursache für ambulante ärztliche Behandlungen dar und obwohl mehr als 90% der unkomplizierten OAW-Infektionen viraler Genese sind, wurde in 52% der Fälle ein Antibiotikum verschrieben (Schopfer 2001). Generell werden 75% aller verschriebenen Antibiotika aufgrund von respiratorischen Infektionen rezeptiert (Denny et al. 1997).

Anatomisch betrachtet kann die Gesamtheit des Atemtrakts in 2 Bereiche aufgeteilt werden, in die oberen und die unteren Atemwege, wobei der Kehlkopf die morphologisch festgelegte Grenze darstellt. Eine weitere Untergliederung der Atemwege in 5 Etagen mit insgesamt 10 Räumen kann auch im Hinblick auf entsprechende spezifische Symptome einer Atemwegsinfektion vorgenommen werden (Abb.1), wobei sich jedoch im klinischen Alltag vor allem in Bezug auf die Primärdiagnostik einer Atemwegsinfektion (AW-Infektion) die generelle Einteilung in die oberen und unteren Atemwege bewährt hat.

## Anatomie - Leitsymptome



	5 Etagen	10 Räume	5 Leitsymptome
Obere Luftwege (OLW)	Nasopharynx	Nase, Nebenhöhlen	Schnupfen
	Oropharynx	Pharynx, Tonsillen	Halsweh
	Larynx	Larynx, Epiglottis	Heiserkeit
Untere Luftwege (ULW)	Trachea	Trachea, Bronchien	Husten
	Lunge	Bronchioalveolarraum Interstitium	Fieber

Abb.1: Anatomische Einteilung der Atemwege mit den entsprechenden Leitsymptomen einer akuten Infektion des jeweiligen AW-Abschnitts

(aus Internet (06/2004): [www.ifik.unibe.ch/ausbildung/konzepte/3\\_jahr/KV\\_11\\_Atemwege.pdf](http://www.ifik.unibe.ch/ausbildung/konzepte/3_jahr/KV_11_Atemwege.pdf))

Die oberen Atemwege bilden die unmittelbare Grenze zur Umwelt und stellen somit den ersten Kontakt zur aspirierten Luft her. Sie besitzen eine mechanische Barriere gegenüber inhalierten Mikroorganismen und verfügen zudem mit dem Waldeyerschen Rachenring über ein spezielles Immunorgan. Ein weiterer Abwehrmechanismus gegenüber von der Außenwelt inhalierten Keimen bildet die gesunde Schleimhautflora, die die Besiedlung pathogener Keime vor allem im Mund- und Rachenraumbereich verhindert. Viren können diesen Schutzmechanismus jedoch ungehindert umgehen und unbeeinflusst von der lokalen Mikroflora die entsprechenden Wirtszellen des oberen Atemtrakts infizieren. Diese Infektionen verlaufen generell jedoch mit einer milden Symptomatik und sind in der Regel selbstlimitierend (Tyrrell et al. 1993)

Bei den unteren Atemwegen, die zum Teil durch die Abwehrmechanismen der oberen Atemwege geschützt sind, spielt vor allem die gerichtete Motilität des Flimmerepithels sowie eine physiologische Schleimproduktion eine wichtige Rolle bei der Infektabwehr. Kommt es dennoch zu Infektionen, kann dies auch aufgrund der immensen Oberfläche von ca. 80m<sup>2</sup> der insgesamt 300 Millionen Alveolen zu schwerwiegenden Verläufen führen.

Bei Kindern kommen noch weitere anatomische Besonderheiten hinzu, die bei der Klinik einer AW-Infektion eine Rolle spielen. So weisen die Atemwege einen engeren Durchmesser als die der Erwachsenen auf. Da der Atemwegswiderstand in Trachea und Bronchien aber in der vierten Potenz umgekehrt proportional zum Radius des Lumens ist, führt eine z.B. 1 mm große Schwellung der Zirkumferenz der Schleimhaut beim Kind zu einer wesentlich stärkeren Beeinflussung der Strömungsfläche und somit zu einer rascheren Stenoseatmung mit entsprechender Erhöhung der Atemarbeit (Kimpen et al. 2000). Des weiteren ist die Gesamtoberfläche der Lunge, die für den Gasaustausch zur Verfügung steht geringer, so daß Infektionen bei gleicher Infektionsfläche proportional schneller zu einer Dyspnoe führen können.

Um demzufolge in prognostischer wie in therapeutischer Hinsicht frühzeitig zielgerechte Aussagen über eine AW-Infektion machen zu können, ist es sinnvoll, die initial und hauptsächlich betroffenen Abschnitte der von der Infektion betroffenen Atemwege anhand der entsprechenden Symptome zu identifizieren.

Die häufigste Manifestation einer viralen AW-Infektion besteht im Bereich der unmittelbar an die Umwelt angrenzenden AW-Abschnitte, dem Nasen-Rachen-Raum. So stellt die typische Verlaufsform die isolierte Rhinitis oder die banale bzw. unkompliziert verlaufende akute Rhinopharyngitis dar (Freymuth et al. 2001, Winther et al. 1998). Diese ist durch einen kurzen und milden, in der Regel selbstlimitierenden Krankheitsverlauf von 5-7 Tagen gekennzeichnet (Tyrrell et al. 1993, Schopfer 2001). Die Symptome betreffen den oberen Respirationstrakt, wobei der Nasen-Rachen-Raum dominiert. So ist das Hauptkennzeichen die Rhinorrhoe mit behinderter Nasenatmung sowie die Pharyngitis mit Halsschmerzen. Ein unproduktiver, trockener Reizhusten kann hinzutreten. Vor allem bei Kindern kommt es häufig begleitend zu einer erhöhten Körpertemperatur. Eine sekundäre Miteinbeziehung der unteren Atemwege ist möglich (Turner 1997, Tyrrell et al. 1993).

Die Prävalenz der akuten Rhinopharyngitis nimmt generell mit zunehmendem Alter ab als Ergebnis eines heranreifenden Immunsystems sowie einer Abnahme der interpersonellen Kontakte und damit der Möglichkeit der Ansteckung, da der typische

Übertragungsweg der Viren horizontal durch Aerosol bzw. durch Kontakt mit infizierten Personen erfolgt (Monto 1995, Turner 1997, Niaid 2001). Weitere Faktoren, die in der Epidemiologie der akuten Rhinopharyngitis eine Rolle spielen, stellen die Jahreszeit, die geographische Region, die physiologische und psychologische Verfassung der betroffenen Person, sowie der jeweilige Zustand des Immunsystems dar (Niaid 2001, Cohen et al. 1991, Eccles 2002).

Aber auch die unteren Atemwege können durch Viren primär infiziert werden. So kommt es vor allem bei Kindern zur Ausprägung viraler Bronchitiden oder Pneumonien, die von der WHO als Infektion der unteren Atemwege (UAW-Infektionen) mit klinischen Zeichen wie Fieber und akuten respiratorischen Symptomen sowie röntgenologisch nachweisbaren Infiltrationen definiert werden. Diese Infektionen verlaufen klinisch meist gravierender als OAW-Infektionen, so daß Hospitalisationen wesentlich häufiger vorkommen. Das typische Bild einer Viruspneumonie besteht aus mäßigem bis hohem Fieber, auskultatorisch mittel- bis grobblasigen Rasselgeräuschen sowie im Röntgenthoraxbild parahiläre, peribronchiale Infiltrationen oder vermehrter interstitieller streifiger Zeichnung (Chiu et al. 1992). Im Labor kann häufig eine Lymphozytose mit normal bis moderat erhöhtem C-reaktiven Protein (CRP) nachgewiesen werden (Han et al. 1998, Chiu et al. 1992, Appenzeller et al. 2002, Lindemann 2002).

Bei einer akuten AW-Infektion ist die exakte Zuordnung zu den einzelnen Atemwegsabschnitte oftmals nicht möglich, da anatomische Grenzen von einem viralen Erreger überschritten werden können. So präsentiert sich eine Vielzahl an unterschiedlichen klinischen Bildern, die sich aus Kombinationen verschiedener Symptome der jeweils in unterschiedlicher Ausprägung betroffenen Atemwegsabschnitte zusammensetzen (Wright et al. 1989). Häufig werden nach OAW-Infektionen die unteren Atemwege und hier führend die Trachea bzw. die Bronchien sekundär miteinbezogen. Dies äußert sich dann z.B. in zusätzlich auftretendem Husten, ein Symptom für eine Mitbeteiligung der unteren Atemwege.

Ätiologisch sind bisher über 200 serologisch unterschiedliche Virusarten bekannt, die eine akute respiratorische Infektion auslösen können. Zum aktuellen Zeitpunkt bleiben jedoch ca. 30-50% der akuten AW-Infektionen bei den aktuell angewandten diagnostischen Methoden ätiologisch unklar, obwohl man aufgrund des Krankheitsverlaufs eine virale Ursache vermutet (Niaid 2001).

Zu den häufigsten Auslösern von OAW-Infektionen gehören neben den Rhinoviren, die für 25-50% der Erkrankungen verantwortlich gemacht werden, mit 15-30% die humanen Coronaviren (HCoV) (Jackson et al. 1973, Kuljic-Kapulica et Budisin 1992, Larson et al. 1980, Mäkelä et al. 1998, MacNaughton et al. 1983, McIntosh et al. 1974, Monto et al. 1994, Monto et al. 1974, Winther et al. 1998). Epidemiologisch treten HCoV im Gegensatz zu den Rhinoviren, die vor allem im Frühling und Herbst zu Infektionen führen (Carlsen et al. 1983), in den Winter- und Frühlingsmonaten auf. Weitere virale Erreger, die zusammen mit 10-15% an den Infektionen der oberen Atemwege beteiligt sind, stellen das Respiratory Syncytial Virus (RSV), die Gruppe der Adenoviren (Adeno) sowie die Parainfluenzaviren 1-3 (PIV 1-3) dar (Mäkelä et al. 1998, Turner 1997).

UAW-Infektionen können prinzipiell durch die gleichen Erreger wie bei den OAW-Infektionen ausgelöst werden, wobei es aber altersabhängig zu einer Verschiebung der potentiell beteiligten viralen Erreger kommt. Vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern unter 2 Jahren werden UAW-Infektionen wie z.B. Bronchiolitiden oder Viruspneumonien durch RSV ausgelöst, später treten Adeno, Influenzaviren und PIV hinzu (Weigl et al. 2000). Aber auch Entero-, Rhino-, Cytomegalie- und Masernviren können vor allem bei immunbeeinträchtigten Patienten ursächlich an UAW-Infektionen beteiligt sein (Mackie 2003, Rabella et al. 1999). Auch Coronaviren (CoV) werden zu den Auslösern einer UAW-Infektionen gezählt. Dies bestätigt sich in neuerer Zeit eindrucksvoll durch die SARS-Epidemie (SARS = severe acute respiratory syndrom), die durch ein neues Coronavirus (SCoV=SARS-CoV) tierpathogenen Ursprungs ausgelöst wird (Guan et al. 2003). Neben SCoV werden aber auch bereits bekannte humane Coronaviren (HCoV) in Zusammenhang mit UAW-Infektionen beschrieben (Monto et al. 1974, Wenzel et al. 1974, Wiselka et al. 1993).

So konnte Wenzel et al. (1974) bei Militärrekruten in Carolina (USA), die an einer Pneumonie mit begleitender Pleuritis erkrankt waren, in 33% der Fälle positive Antikörper (Ak) gegen HCoV mittels der Komplementbindungsreaktion nachweisen. Wiselka et al. (1993) zeigte, daß Rhinoviren, HCoV und RSV bei Patienten mit vorbestehender chronischer Lungenerkrankung in allen untersuchten Fällen mit Zeichen einer UAW-Infektion vergesellschaftet waren. Neben weiteren Studien, vor allem von Falsey et al. (1995, 1997, 2002), in denen HCoV hauptsächlich bei cardiopulmonal vorerkrankten, älteren Personen mit UAW-Infektionen nachgewiesen werden konnte, gelang auch bei Säuglingen und Kindern bereits der Nachweis von HCoV bei akuten UAW-Infektionen (McIntosh et al. 1974, Riski et Hovi 1980, Matsumoto et al. 1992).

## **1.2 Ziel der Arbeit:**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rolle von HCoV 229E bei Infektionen der Atemwege im Kindesalter näher zu charakterisieren. Zusätzlich sollte parallel die Beteiligung weiterer Viren des Respirationstraktes an akuten AW-Infektionen bei Kindern im Hospitalbereich untersucht werden. In unserer Arbeit wurde über einen definierten 2-Jahres Zeitraum bei pädiatrischen Patienten, die aufgrund einer akuten Atemwegsinfektion in der Haunerschen Kinderklinik in München, Deutschland, ambulant oder stationär behandelt wurden, anhand serologischer Untersuchungen ermittelt, inwieweit Adeno, RSV oder PIV 1-3 ursächlich beteiligt waren. Bei den Patienten, bei denen sich primär keine serologischen Hinweise für eine akute Infektion mit oben genannten Viren ergaben, sollte durch einen eigens für diese Studie hergestellten indirekten Immunfluoreszenztests (IFT) untersucht werden, ob HCoV Typ 229E Auslöser von akuten Atemwegsinfektionen war. Die klinische Symptomatik und der Krankheitsverlauf sollten retrospektiv bei den HCoV 229E positiven Patienten ermittelt werden. Neben der Untersuchung von HCoV 229E-IgM-Antikörpern sollte durch den Nachweis von IgG-Antikörpern gegen HCoV 229E die Durchseuchungsrate bei der Studienpopulation festgestellt werden.



## **2. Hauptmerkmale der untersuchten respiratorischen Viren:**

### **2.1 Allgemeine Virologie – Historie und Einteilung:**

Der Begriff Virus, vom lateinischen Wort venenum (= Gift) abgeleitet, wurde erstmals von Cornelius Aulus Celsus im 1. Jahrhundert vor Christus in Zusammenhang mit der Beobachtung verwendet, daß die Tollwut durch ein nicht näher bestimmbares „Gift“ übertragen wird. 1898 beschrieb Sanarelli in seiner Arbeit „Das myxomatogene Virus – Beitrag zum Studium der Krankheitserreger außerhalb des Sichtbaren“ das erste Virus (Günzburg 2001).

Viren sind grundsätzlich azelluläre, obligat intrazelluläre Parasiten und außerhalb von Wirtszellen unbelebte Partikel, die als gemeinsames Merkmal eine Grundstruktur mit Vorkommen von Nukleinsäure (RNA-DNA) und einem Nucleokapsid (helikal-kubisch-komplex) besitzen und auf bestimmte Zellen infektiös wirken können.

Die Einteilung der Viren in unterschiedliche Familien erfolgt anhand von Kriterien bezüglich ihres Aufbaus. Hierbei spielen Merkmale des Nukleinsäure-Typs, der Genom-Struktur, der Capsid-Symmetrie sowie der Umhüllung eine Rolle. Eine weitere Unterteilung der Virusfamilien in Genera und einzelne Virustypen wird überwiegend anhand serologischer Kriterien und der Ähnlichkeit der Genomsequenzen vorgenommen.

## **2.2 Spezielle Virologie**

### **2.2.1 Respiratory Syncytial Virus /Parainfluenzavirus/Adenovirus**

#### **2.2.1.1 Respiratory Syncytial Virus (RSV)**

Das RSV ist ein umhülltes, nicht-segmentiertes Einzel-Strang-RNA-Virus und gehört zum Genus der Paramyxoviridae (Domachowske et Rosenberg 1999). Beim Menschen vermehrt sich das Virus im respiratorischen Epithel. Ein RSV-Fusionsprotein bewirkt die charakteristische Zellverschmelzung infizierter Zellen und gibt letztlich dem Virus seinen Namen (Delage et al. 1984)

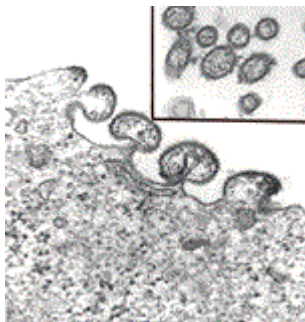


Abb.2: RSV (EM-Bild); große Aufnahme: Virusbudding von RSV; kleine Aufnahme: einzelne RS-Virionen (aus Internet (05/2004): [www.epidemic.org/theFacts/viruses/viralReplication.html](http://www.epidemic.org/theFacts/viruses/viralReplication.html))

Die Übertragung erfolgt über eine Tröpfcheninfektion sowie durch direkten Kontakt. Die Ansteckungsrate innerhalb einer Familie liegt bei 46% (Ruuskanen et Ogra 1993). Die Inkubationszeit beträgt 2-8 Tage (Waris et al. 1992). Nach Beginn der klinischen Symptomatik besteht eine Phase der Virusreplikation und damit der Infektiosität von 5-10 Tagen (Waris et al. 1992). RSV ist der häufigste Erreger der Bronchiolitis und einer der häufigsten Erreger von Pneumonien bei Säuglingen und Kleinkindern bis zu einem Alter von 24 Monaten (Boeck 1996, Weigl et al. 2000, McIntosh et al. 1993, Lina et al. 1996). Als Bronchiolitis wird im europäischen Sprachgebrauch eine Infektionserkrankung der Atemwege bis zum Alter von 12 Monaten verstanden, bei der es zu einer expiratorischen Stenoseatmung und zur Überblähung der Lunge kommt (Boeck 1996). Durch das epidemische Auftreten in den Wintermonaten ist nahezu jedes Kind bis zu einem Alter von 24 Monaten mit RSV in Kontakt gekommen. Bei bis zu 40% aller RSV Infektionen ist der untere Respirationstrakt betroffen (Ruuskanen et Ogra 1993).

### **2.2.1.2 Parainfluenzavirus 1-3 (PIV 1-3):**

Die Parainfluenzaviren werden als Genus den Paramyxoviridae zugeordnet. Die Viren sind umhüllte Einzel-Strang-RNA-Viren in negativer Ausrichtung mit einem helikalen Nucleokapsid und einer Größe von ca. 200 nm im Durchmesser (Henrickson 2003).



Abb.3: PIV (EM-Bild) (aus Internet (05/2004): [www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/paramyx.html](http://www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/paramyx.html))

Von den 4 bekannten Serotypen haben bisher vor allem PIV 1-3 eine humanpathogenetische Bedeutung erlangt. Der Übertragungsweg ist die Tröpfcheninfektion. Die Inkubationszeit beträgt 2-8 Tage (Aho et al. 2000). PIV 1 und 2 kommen in alternierenden Jahren epidemisch hauptsächlich im Herbst und frühen Winter vor, während PIV 3 jährlich im späten Frühling und Anfang Sommer auftritt (Laurichesse et al. 1999). PIV replizieren sich im respiratorischen Epithel, das Virusbudding findet in den apikalen Zellregionen statt. PIV 1-3 können bei Kindern Bronchiolitis und Pneumonien verursachen, wobei vor allem PIV 1 und 2 neben mild verlaufende Atemwegsinfektionen auch Pseudokrupp und Laryngitis auslösen können. PIV 3 ist das am häufigsten isolierte PIV und verursacht bei Kleinkindern und immunkompromitierten Patienten UAW-Infektionen und ist eine wesentliche Ursache bei der Hospitalisation von Kindern (Henrickson et al. 2003, Laurichesse et al. 1999).

### **2.2.1.3 Adenovirus (Adeno):**

Adenoviren wurden erstmalig in den 50er Jahren aus Tonsillen (griech. aden = Drüsen) isoliert. Sie sind nackte lineare Doppel-Strang-DNA-Viren mit einem icosaedrischen Kapsid. Die Größe beträgt ca. 17-19 nm im Durchmesser. Beide DNA-Stränge encodieren für ca. 30 Proteine.

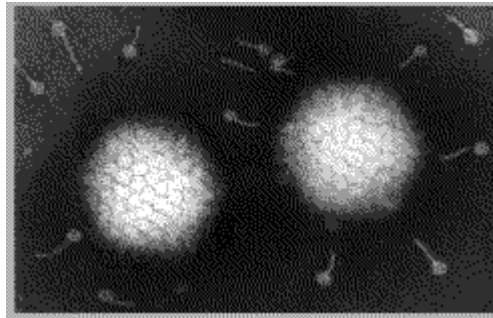
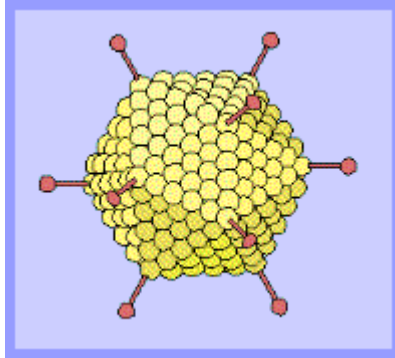


Abb.4: Adenovirus (Schemazeichnung); Abb.5: Adenoviren (EM-Bild)

(aus Internet (05/2004): [www.stanford.edu](http://www.stanford.edu))

Es sind 59 Serotypen von Adenoviren bekannt, die in Subgenera von A-F eingeteilt werden, wobei neun Serotypen (1-7, 14 und 21) eine wichtige humanpathogene Rolle zugesprochen wird (Couch et al. 1997). Die Übertragung der Viren verläuft sowohl über eine Schmier- als auch aerogen über Tröpfcheninfektion (Wadell et al. 1999) mit einer hohen Kontagiosität (Edwards et al. 1985). Die Inkubationszeit bei Kindern ist unbekannt, bei Erwachsenen beträgt sie 2-18 Tage (Aho et al. 2000). Es folgt bei immunkompetenten Personen eine üblicherweise 2 wöchige, selbstlimitierende Infektion. Adenoviren infizieren bei Kindern vor allem das respiratorische Epithel der oberen wie unteren Atemwege (Edwards et al. 1985), sind aber genauso in der Lage andere Epithelien des Körpers wie zum Beispiel die des Magen-Darm-Trakts oder der Harnwege zu infizieren. Die Erkrankungen verlaufen meist fieberhaft und manifestieren sich an den Atemwegen als Pharyngitis, Tonsillitis, Bronchitis, Bronchiolitis oder Pneumonie (Wadell et al. 1999, Russell et al. 1998, Van Lierde et al. 1989). Adenovirus-Infektionen können bei immungeschwächten Personen auch schwere systemische Krankheitsbilder induzieren bis hin zum letalen Ausgang (Hierholzer 1992).



## 2.2.2 Humanes Coronavirus (HCoV)

### 2.2.2.1 Klassifikation

1965 wurde durch Tyrrell und Bynoe (Tyrrell et Bynoe 1965) erstmalig HCoV als eigenständige Virusfamilie beschrieben. CoV sind bekannte tierpathogene Viren. Die Beziehung zu den humanpathogenen Typen wurde durch serologische Kreuzreaktionen (Bradburne 1970) und in jüngerer Zeit auch durch Genomsequenzbestimmung nachgewiesen. Die Einteilung in die Gruppe der CoV erfolgt aufgrund morphologischer und genetischer Gemeinsamkeiten.

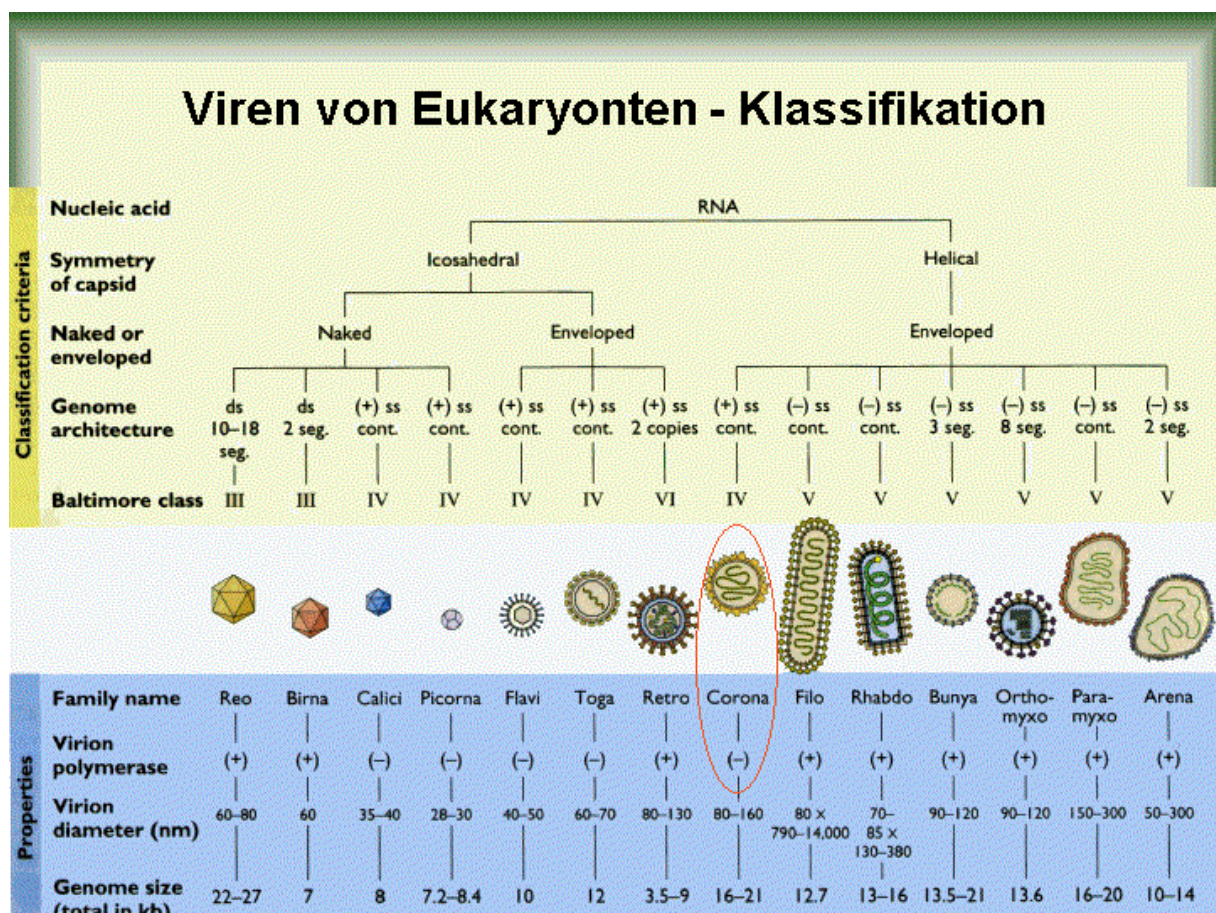


Abb.6: RNA-Viren von Eukaryonten

(aus Internet (02/2003): <http://eos.bio.tu-darmstadt.de/newwww/microbiology/pfeifer/kletzin/Virologie/>)

Die CoV mit ihrem einzelsträngigen RNA-Genom in positiv-Strang Orientierung, ihrem helicalen Capsid-Aufbau und ihrer spezifischen Umhüllung gehören als Genus zusammen mit den tierpathogenen Toroviren zur Virusfamilie der Coronaviridae



(Cavanagh et al. 1994). In Abb.6 wird die Einteilung der CoV innerhalb der RNA-Viren von Eukaryonten gezeigt.

Innerhalb des Genus der Coronaviridae sind von der Vielzahl an bekannten human- und tierpathogenen Arten (Tabelle 1) aufgrund serologischer Bestimmungen 3 unterschiedliche Serogruppen beschrieben worden, die HCoV-229E-ähnlichen, die HCoV-OC43-ähnlichen sowie die IBV-ähnlichen, wobei für den Menschen bisher vor allem 2 Serogruppen pathogene Bedeutung erlangt haben, das humane Coronavirus 229E (HCoV 229E) sowie das humane Coronavirus OC43 (HCoV OC43). Neu hinzugetreten ist eine Gruppe von CoV als Verursacher einer zum Teil letal verlaufenden Pneumonie, dem sogenannten „Severe Acute Respiratory Syndrom“ (SARS). Ein ursprünglich tierpathogenes CoV, das SCoV-like Virus, ist durch eine Interspezies-Transmission zu einem humanpathogenen CoV mutiert, dem SCoV. Dieses führte, ausgehend von einer Region in Süd-China (Kanton Guangdong), um die Jahreswende 2002-2003 zu einer Pandemie vor allem in der asiatischen Bevölkerung. (Guan et al. 2003)

Coronaviruses		
Chicken	Avian infectious bronchitis virus	IBV
Cattle	Bovine coronavirus	BCV
Dog	Canine coronavirus	CCV
Cat	Feline infectious peritonitis virus	FIPV
Man	Human coronavirus 229E	HCV 229E
Man	Human coronavirus OC43	HCV OC43
Mouse	Mouse hepatitis virus	MHV
Rat	Rat coronavirus	RCV
Pig	Porcine epidemic diarrhoea virus	PEDV
Pig	Porcine transmissible gastroenteritis virus	TGEV
Pig	Porcine haemagglutinating encephalomyelitis virus	HEV
Turkey	Turkey coronavirus	TCV

Abb.7: Verschiedene Serogruppen von CoV (aus: Siddell et Myint 1996)

In den Jahren 2004 und 2005 wurde von 4 weiteren humanpathogenen Coronaviren berichtet, die mit respiratorischen Erkrankungen assoziiert waren: NL63, NL, HCoV-NH und HKU 1 (CDC 2006). Das HCoV-NH scheint zudem mit dem Kawasaki-Syndrom assoziiert zu sein (Hassler et al. 2005).

Eine weitere Gruppe an Viren, bei denen bisher noch keine exakte Zuordnung möglich ist, stellen die sog. „Coronavirus like particles“ (CVLP) dar, die in Stuhlproben nachgewiesen werden können und heute zur Gruppe der „human enteric coronaviruses“ (HECV's) gerechnet werden. Hierbei ist aber anzumerken, daß der letzte Beweis einer Zugehörigkeit zu der Familie der Coronaviridae noch nicht erbracht werden konnte (Siddell et Myint 1996).

#### **2.2.2.2 Struktur und Aufbau von HCoV:**

CoV sind membranumhüllte, kugelige Gebilde von ca. 100 nm im Durchmesser mit einem helikal aufgebautem Nucleokapsid. Charakteristisch sind membrangebundene Proteine, die radiär ca. 20 nm lang als keulenförmige Oberflächenfortsätze wie ein Strahlenkranz das Virus umgeben und den Grund für die Namensgebung lieferten (Corona lat. = Strahlenkranz) (Siddell et Myint 1996). Die Viren besitzen eine positiv-Strang-RNA, die das größte Genommaterial aller RNA-Viren (27 bis 32 kb) darstellt. Typisch für CoV ist seine hohe Rekombinationsrate während der Replikation (Holmes et Lai 1996).

Das Genom von HCoV 229E und OC43 wurde vollständig entschlüsselt. Bei HCoV 229E besteht die genomische RNA aus einem einzigen Molekül einer Positiv-Strang-RNA von ca. 27300 Nukleotiden. Sie beinhaltet 8 bekannte Genorte, sogenannte „major open reading frames“, die für Struktur- und Nicht- Strukturproteine codieren. Die in den Viren enthaltene RNA fungiert nach Infektion einer Zelle als mRNA und wird im Cytoplasma der Zelle in eine RNA-abhängige RNA-Polymerase translatiert. Diese wiederum transkribiert die Positiv-Strang RNA in eine komplementäre Negativ-Strang RNA, die als Vorlage für subgenomische 3'-coternale mRNA's dient (Narayanan et al. 2001). Diese weisen unterschiedliche Länge auf und translatieren bis

auf wenige Ausnahmen nur jeweils das Protein, das am 5'-Ende codiert wird. Das 5'-Ende ist mit einer Cap-Gruppe modifiziert und weist jeweils eine identische Leader-Region auf, die wahrscheinlich als Primer dient (Lai 1995, Siddell et Myint 1996).

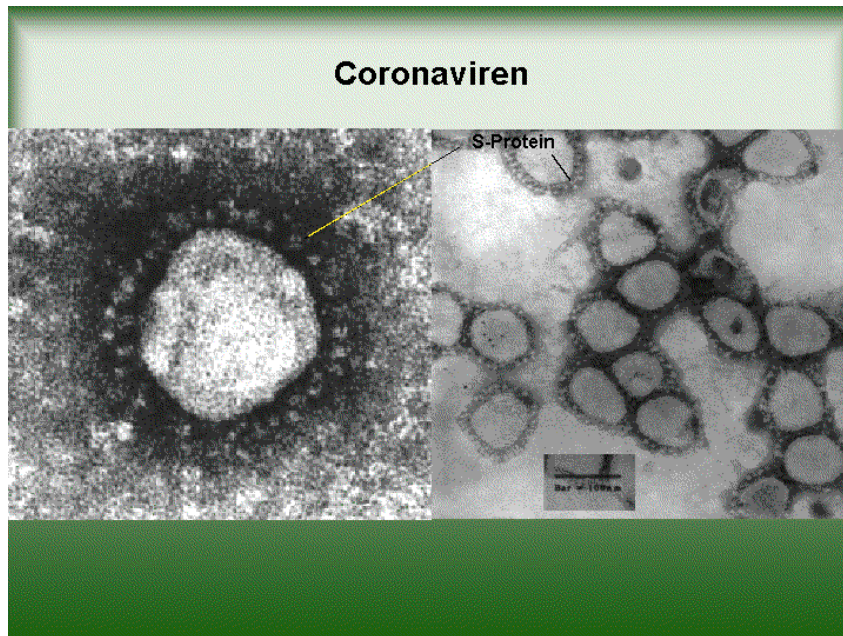


Abb.8: CoV (EM-Bild) (aus: Siddell et Myint 1996)

Die bekannten Strukturproteine des Virus sind das Oberflächenprotein S, das small membrane protein sM, das Membranprotein M sowie das Nucleocapsidprotein N. Des weiteren gibt es sogenannte Nicht-Strukturproteine, wie z.B. die RNA-abhängige RNA-Polymerase. Die Funktion der weiteren Nicht-Strukturproteine ist bisher weitgehend unklar, aber es wird angenommen, daß diese vor allem in der Phase der Virusreplikation eine wichtige Rolle spielen (Siddell et Myint 1996). Die Strukturproteine besitzen neben ihren verschiedenen Lokalisationen im Virusaufbau auch differente Aufgaben. Das Oberflächenprotein S ist in der Membran des Virus verankert, ragt ca. 20nm keulenförmig über die Membran hinaus, ist 180-200 kD schwer und bildet die Grundlage für die elektronenmikroskopisch sichtbare „Corona“ des Virus (Holmes et Lai 1996). Diesem Protein werden wichtige Funktionen in der Bindung des Virus an zelluläre Rezeptor, hier vor allem der Aminopeptidase N zur Initialisierung der Infektion zugeschrieben. Des weiteren kann das Protein S die Membranfusion der Virusmembran mit der Wirtsmembran sowie bei infizierten Zellen die Zellfusion untereinander bewirken. Bei der Immunabwehr des Wirts wird durch das Protein S die Produktion neutralisierender Antikörper induziert und durch



Präsentation des Protein S in der Zellmembran infizierter Zellen die Ak-induzierte cytotoxische Zelllyse durch natürliche Killerzellen vermittelt. Das Membranprotein M ist ein glycosyliertes Membranprotein von 180-120 kD Masse und in der Virusmembran lokalisiert. Es vermittelt die Bindung der Virusmembran mit dem Nucleocapsid und ist ein wichtiges Protein für die Virusreifung in der Wirtszelle. Das small Membrane Protein sM besitzt eine Masse von 9,1 kD und ist ein Strukturprotein, das eine zentrale Rolle bei der Formation der Virushülle spielt und als Membranprotein in die Virus-Membran eingebaut wird (Maeda et al. 2001). Möglicherweise besitzt dieses Protein eine Ionenkanal-Aktivität. Das Nucleocapsid-Protein N ist ein stark basisch reagierendes Phosphoprotein mit 50 bis 60 kD Molekulargewicht und dient der Einkapselung des RNA-Genoms in ein langes, flexibles, helikal aufgebautes Nucleocapsid sowie zur Interaktion mit der cytoplasmatischen Seite des M-Proteins. Des weiteren bewirkt das Protein N eine zellvermittelte Immunität (Holmes et Lai 1996).

#### **2.2.2.3 Replikationszyklus von HCoV:**

Bei der Initiation erfolgt das sogenannte Attachment des HCoV 229E mittels seiner S-Proteine an der Aminopeptidase N der Zelloberfläche der Wirtszelle. (Holmes et Lai 1996). Alle folgenden Replikationsschritte des Processing, Assembling und Budding laufen im Zytoplasma der Wirtszelle ab. Nach dem Budding-Prozess akkumulieren die Viren in großen Vesikeln, die durch Fusion mit der Zellmembran zur Freisetzung der Viren führt ohne daß es zwangsweise zu einem Untergang der Wirtszelle kommt (Klumpermann et al. 1995, Lim et al. 2001, Narayanan et al. 2001, Nguyen et al. 1997)

#### **2.2.2.4 Pathomechanismus von HCoV:**

Eine CoV-Infektion kann an der Wirtszelle prinzipiell 3 verschiedene Folgen haben. Zum einen kann ein virusinduzierter zytopathischer Effekt resultieren (Holmes et Lai 1996). Zum anderen kann es aber auch zu einer Zellfusion infizierter Zellen kommen, die über eine Cystein-reiche Domäne des S-Glycoproteins vermittelt wird (Chang et al. 2000). Bei HCoV ist dies wohl eher als Ausnahme zu betrachten (Siddell et Myint

1996). Ein dritter Effekt auf die Wirtszelle, der vor allem unter Laborbedingungen an Zellkulturen zu beobachten ist, stellt die chronische Infektion ohne zytopathischen Effekt mit permanenter Produktion von CoV dar (Holmes et Lai 1996).

#### **2.2.2.5: Immunreaktion beim Wirt:**

In der Pathogenese einer Atemwegsinfektion spielt nicht nur das beteiligte Virus, sondern auch der Wirt eine entscheidende Rolle, da die Empfänglichkeit für eine virale Infektion sowie die immunologische Antwort entscheidend zur Klinik einer Virusinfektion beitragen. Beeinflussende Faktoren sind neben dem physiologischen und psychologischen Status des betroffenen Individuums auch seine Erbanlagen (Siddell et Myint 1996). So konnte gezeigt werden, daß die Empfänglichkeit der Wirtszelle beim Menschen unter anderem von der q11-qter-Region des Chromosoms 15 abhängig ist (Sakaguchi et al. 1982). Weitere das Krankheitsgeschehen beeinflussende Faktoren stellen die Umweltbedingungen, die Jahreszeit sowie der Status der Immunabwehr dar.

Als Übertragungsweg ist in Analogie zum Rhinovirus vor allem die Tröpfchen- oder Schmierinfektion anzunehmen. Hierfür spricht die zu beobachtende simultane Infektion exponierter Personen sowie die Virushaltbarkeit von CoV in einer Atmosphäre mit hoher Luftfeuchtigkeit und niedrigen Temperaturen (Ijaz et al. 1985). Sizun et al. zeigte (2000). HCoV kann 6 Tage lang in einer salinen Lösung seine Infektiosität behalten, jedoch reduziert sich nach Abtrocknung die Infektiosität bei HCoV 229E auf 3 Stunden, bei HCoV OC43 sogar auf 1 Stunde.

Beim Menschen werden, wie elektronenmikroskopische Studien belegen (Afzelius 1994, Chilvers et al. 2001), die zilienträgenden Schleimhautzellen bzw. die Flimmerepithelzellen des respiratorischen Epithels und nicht die Becherzellen von HCoV 229E infiziert. Dies erfolgt von apikaler Seite (Wang et al. 2000) über die Bindung der S-Glycoproteine an die Aminopeptidase N (=CD13-Rezeptor). Es können über diesen Weg natürlich auch weitere den CD 13-Rezeptor tragende Zellen, wie z.B. Darmepithel-Zellen, epitheliale Zellen der Nieren, Fibroblasten oder neuronale Zellen

potentiell durch HCoV 229E infiziert werden. (Wentworth et al. 2001, Vabret et al. 1998).

Die Replikation von HCoV 229E erfolgt nach Infektion der Zelle innerhalb der nächsten 12-36 Stunden. In Studien an MRC-5 Zellen und WI-38-Zellen, spezielle embryonale Lungenfibroblastenzelllinien humanen Ursprungs, die zur Kultivierung von HCoV 229E geeignet sind (Phillpotts et al. 1983, MacNaughton et Madge 1978), fanden sich 8-16 Stunden nach Infektion elektronenmikroskopisch nachweisbar HCoV 229E-Partikel im rauen endoplasmatischen Retikulum und nach 24-36 Stunden komplette Viren in plasmatischen Vesikeln sowie bereits extrazellulär (MacNaughton et al. 1980).

Somit erfolgt in Zellkulturen die primäre Virusvermehrung ohne wesentlichen zytopathischen Effekt. Eine belegte Infektionsfolge an respiratorischen Flimmerepithelzellen in vivo ist, daß elektronenmikroskopisch die Zilien des respiratorischen Epithels in die Zellen eingezogen werden und somit ihre Motilität verlieren (Afzelius 1994, Chilvers et al. 2001). Vielleicht ist dies als eine der Ursachen für die einsetzende Rhinorrhoe anzusehen. Es spielen aber noch weitere Faktoren wie Aktivierung proinflammatorischer Mediatoren und Cytokine mit Permeabilitätssteigerung der Gefäße und Temperaturerhöhung der Nasenschleimhaut sowie die Exsudation eines fibrinreichen Plasmas als histaminerge Reaktion in der Pathogenese der akuten Rhinopharyngitis eine Rolle (Noah et al. 1995, Igarashi et al. 1993, Akerlund et al. 1993, Greiff et al. 1994).

Die Virusvermehrung verläuft optimal bei 32-33° Celsius, in etwa den Temperaturen der oberflächlichen Schichten der nasalen Schleimhaut entsprechend (MacNaughton et al. 1980).

Durch eine CoV-Infektion kommt es zur Produktion von Ak der Gruppe IgG, IgM und IgA, wobei IgM-Ak im Rahmen der Immunantwort als erste im Serum ansteigen. Die Ak sind vor allem gegen das Oberflächen-Glycoprotein S von HCoV gerichtet, es werden aber auch Ak gegen das Nucleoprotein N und das Membranprotein M gebildet

(MacNaughton 1981, Callow et al. 1990). Bei der akuten Infektion kann ein Serum-Ak-Titer-Anstieg ca. 7 Tage nach Virusinokulation nachgewiesen werden (Callow et al. 1990, O'Toole et al. 1989), der nach 12-14 Tagen sein Maximum erreicht. Danach kommt es innerhalb von 12-18 Monaten wiederum zu einem kontinuierlichen Abfall der Ak-Titer bis letztlich unter die technische Nachweisbarkeitsgrenze (Callow et al. 1990, MacNaughton 1982, O'Toole et al. 1989).

Über den zeitlichen Ablauf einer HCoV-Infektion gibt es reichlich Daten durch kontrolliert durchgeführte Infektionen mit HCoV an Probanden (Bradburne et al. 1967, Bradburne et al. 1972, Reed 1984, Tyrrell et al. 1993). Die Inkubationsperiode von HCoV beträgt 3 Tage (2-5 Tage), 1 Tag länger als bei den Rhinoviren, die Dauer der Erkrankung um die 7 Tage (2-18 Tage).

Obwohl IgA-Ak sowie Interferone (Tyrrell 1988, Pitkaranta et al. 1993) vor einer erneuten Infektion mit HCoV schützen, kommt es dennoch zu häufigen Reinfektionen. Eine durchgemachte HCoV-Infektion schützt für ca. 1 Jahr vor einer Reinfektion durch den gleichen Serotyp und für ca. 2 Monate durch einen heterologen Serotyp (Schmidt et al. 1986).

#### **2.2.2.6: Epidemiologie und Klinik von HCoV:**

##### **2.2.2.6.1: Epidemiologische Daten:**

HCoV 229E und OC43 kommen weltweit vor (McIntosh 1996). Bei bis zu 90-100% der Erwachsenen können Ak gegen HCoV gefunden werden (Hovi et al. 1979, Hasony et MacNaughton 1982, Hendley et al. 1972, Mathur et al. 1982). Ukkonen et al. (1984) fand in seiner Studie in Finnland bei 40% der 2 jährigen und sogar nahezu 100% der 6 jährigen IgG-Ak gegen HCoV OC43. Umfangreiche Daten zur Durchseuchung der Bevölkerung mit HCoV 229E und OC43 liegen auch von Hruskova et al. (1990) vor. Die Bevölkerung von 4 verschiedenen tschechischen Regionen wurde mittels ELISA auf das Vorhandensein von IgG-Ak gegen beide Serotypen von HCoV getestet. Hierbei wiesen 53% der untersuchten Personen IgG-Ak gegen HCoV 229E und 88% gegen HCoV OC43 auf. Die Ergebnisse zeigten zudem eine deutliche regionale

Schwankungsbreite. Insgesamt stieg aber geographisch unabhängig mit zunehmendem Alter die Anzahl der positiv getesteten Personen.

Die wohl größte epidemiologische Studie über die Beteiligung von HCoV an akuten Atemwegsinfektionen erfolgte in Tecumseh, Michigan (USA), durch Monto et al. (1974). Dort wurde die ansässige Population über 4 Jahre auf HCoV hin untersucht. Hierbei konnte die Arbeitsgruppe bei 910 Personen aus 296 Familien mit den Zeichen einer akuten Atemwegsinfektion in 17% der Fälle eine Infektion mit HCoV OC43 und in 8% mit HCoV 229E nachweisen. Über 80% der ermittelten Infektionen mit HCoV OC43 ereigneten sich trotz präexistierender Ak. Auch Schmidt et al. (1986), der von 1975-1979 in gleicher Weise wie Monto et al. (1974) Familien in Seattle beobachtete, konnte häufig Reinfektionen anhand erneuter Ak-Titer-Anstiege beobachten, die jedoch mit dem gleichen Serotyp frühestens 4 Monate nach der letzten Infektion auftraten. Kinder erkrankten hierbei 3 mal häufiger an einer HCoV-Infektion als Erwachsene. Die individuelle Häufigkeit einer HCoV-Infektion wurde von MacNaughton et al. (1982) mit 1 Infektion alle 8 Monate angegeben.

Saisonale Häufungen der HCoV-Infektionen sind vor allem in den Winter- und Frühlingsmonaten zu beobachten (Monto et al. 1974, Hamre et al. 1972, Schmidt et al. 1986). Abweichend hiervon beschrieb MacNaughton et al. (1982) in seiner 5 Jahres-Studie an erwachsenen Arbeitern in London IgG-Ak-Anstiege gegen HCoV 229E und OC43 neben den Winter- auch in den Sommer-Monaten. Von Mäkelä et al. (1998) wurde in Finnland eine saisonale Häufung von HCoV-Infektionen in den Frühjahrsmonaten angegeben.

#### **2.2.2.6.2: HCoV und OAW-Infektion:**

HCoV lösen vor allem mild verlaufende, selbstlimitierende OAW-Infektionen aus. Grundlegende Daten über die Klinik einer HCoV-Infektion erhielt man aus medizinischen Versuchen (Bradburne et al. 1967, Bradburne et al. 1972, Reed 1984), bei denen gesunden Probanden HCoV nasal inokuliert und der Krankheitsverlauf prospektiv und kontrolliert beurteilt wurde. Hierbei zeigt sich, daß die Mehrzahl aller

Infektionen inapparent verlaufen. Nur 10-30% der Probanden entwickeln klinische Symptome einer akuten Rhinopharyngitis. Bei allen Erkrankten besteht hierbei eine nasale Obstruktion mit Rhinorrhoe, der im Verlauf ein allgemeines Krankheitsgefühl, Kopfschmerzen sowie leichte Halsschmerzen hinzutreten können. Bei 20% der Probanden besteht zudem Husten, bei jedem 10. kommt es zu leichtem Fieber.

Eine Zusammenfassung der Symptomatik von HCoV 229E wurde von Siddell (1996) vorgenommen. Hierbei wird die Klinik von HCoV mit der von Rhino- und Influenzaviren verglichen.

SYMPTOM	HCOV 229E	RHINOVIRUS 2	INFLUENZAVIRUS TYP A
Fieber	9-23	7-16	98
Rhinorrhoe, nasale Obstruktion	94-100	64-100	20-30
Kopfschmerzen	32-85	28-50	85
Allgemeines Krankheitsgefühl	46-47	28-43	80
Niesen	85	50	30
Halsschmerzen	54-68	87-93	50-60
Husten	21-31	64-68	90
Heiserkeit	12	57	10
Myalgie	9	21	60-75
Brennende/tränende Augen	29	43	60-70
Frösteln	18	21	90

Tabelle 1: Vergleich der klinischen Symptomatik von HCoV 229E, Rhinovirus 2 und Influenzavirus Typ A (Angaben in Prozent) (aus: Siddell et Myint 1996)

Aus der Zusammenstellung (Tabelle 1) der Krankheitssymptome der 3 verschiedenen respiratorischen Viren wird ersichtlich, daß es anhand der Klinik nicht möglich ist, Rückschlüsse auf das auslösende virale Agens zu ziehen, da jedes Virus in der Lage ist, sämtliche Symptome einer akuten OAW-Infektion hervorzurufen (Siddell et al. 1996). Auch Freymuth et al. (2001) trifft in seiner Untersuchung die Feststellung, daß die klinischen Bilder der einzelnen respiratorischen Viren stark variieren können und eine strikte klinisch-virologische Korrelation fehlt.

Eine aktuellere Untersuchung zur Beteiligung von viralen Erregern bei Erkältungskrankheiten in Finnland wurde von Mäkelä et al. (1997) veröffentlicht. Von 200 jungen Erwachsenen in einem mittleren Alter von 24 Jahren mit den Zeichen und Symptomen einer OAW-Infektion wie Rhinorrhoe, nasale Obstruktion oder Halsschmerzen ergab sich bei 69% der Erkrankungen der Hinweis für eine virale Ursache. Am häufigsten zu finden waren mit 52,5% das Rhinovirus gefolgt von HCoV mit 8,5%.

#### **2.2.2.6.3 HCoV und UAW-Infektionen**

HCoV werden neben den OAW-Infektionen auch in Zusammenhang mit UAW-Infektionen gebracht (El Sahly et al. 2000, Riski et Hovi 1980, McIntosh et al. 1974). Bereits McIntosh et al. konnte in seiner 1974 veröffentlichten Studie bei 8% der hospitalisierten Kindern unter 18 Monaten, die an einer UAW-Infektion erkrankt waren, den serologischen Nachweis einer HCoV-Infektion führen. Hierbei wurde HCoV bei den viralen Ursachen an 3. Stelle nach PIV 3 und RSV angeführt. Vabret et al. (2001) wies in Sputum von 202 Erwachsenen mit Zeichen einer UAW-Infektion über die rt-PCR bei 6 Patienten (3%) HCoV- RNA nach.

Es wurden auch Einzelfallbeschreibungen veröffentlicht wie von Folz et al. (1999), der elektronenmikroskopisch einen CoV in der broncho-alveolären Lavage einer Patientin mit respiratorischer Insuffizienz unter Chemotherapie nach Mamma-Carcinom nachwies. Von Giudicelli et al. wurden in einem 1995 veröffentlichten Brief HCoV-Infektionen mit Apnoen und sogar dem plötzlichen Kindstod in Zusammenhang gebracht.

Somit sind durchaus Studien und Fallbeschreibungen vorhanden, die eine Beteiligung von HCoV an UAW-Infektionen postulieren. Es gibt aber bisher nur unzureichende Daten über die Beteiligung von HCoV 229E an AW-Infektionen bei Kindern, die letztlich eine Hospitalisation erfordern.

#### **2.2.2.6.4 HCoV und Asthma:**

Die Bedeutung eines intakten respiratorischen Epithels als Barriere und Schutzfunktion vor bronchialer Hyperreagibilität wurde von Folkerts et al. (1998, b) herausgestrichen. Bei Schädigung dieser Barriere, wie sie zum Beispiel durch eine Infektion des respiratorischen Epithels verursacht wird, kann es zur Entwicklung von spastischen Atemwegsverengungen kommen. Studien belegen zum einen, daß Kinder, die im Kleinkindesalter UAW-Infektionen durchmachten, im Schulalter vermehrt Asthma entwickeln (Nja et al. 2003) und zum anderen, daß akute virale Atemwegsinfektionen Exazerbationen eines bereits bestehenden Asthmas provozieren können (Nicholson et al. 1993, Folkerts et al. 1998). Neben den respiratorischen Viren wie RSV, PIV, Adeno, Influenza- oder Rhinoviren (Monto 1995) wird auch HCoV in Verbindung mit einer bronchialen Hyperreagibilität gebracht (Montalbano et al. 2002, Vabret et al. 2001, Trigg et al. 1996). Hierbei steht HCoV als Auslöser von Exazerbationen eines Asthmas an 2. Stelle hinter den Rhinoviren (Johnston et al. 1995). Marin et al. (2000) konnte mittels PCR zeigen, daß bei einem Großteil der Kinder mit Asthma selbst im symptomfreien Intervall im nasopharyngealen Sekret genomisches Material von Adeno, Rhinovirus oder HCoV nachweisbar ist, wobei in der gesunden Kontrollgruppe nur bei einem Kind Adenovirus-DNA gefunden wurde. Diese Daten legen einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen Virusinfektionen und Asthma-Erkrankung nahe.

#### **2.2.2.6.5 Weitere mit HCoV assoziierte Erkrankungen**

Da eine akute HCoV-Infektion, wie unter 2.2.2.5 ausgeführt, vor allem über den CD13-Rezeptor initiiert wird und dieser an Zelloberflächen verschiedener Organsysteme zu finden ist, stehen HCoV potentiell nicht nur die Flimmerepithelzellen des Respirationstraktes als Wirtszellen zur Verfügung (Yeager et al. 1992). So lassen sich beim Menschen auch andere Erkrankungen, wie zum Beispiel Multiple Sklerose (MS), das Kawasaki-Syndrom oder Nephropathien mit HCoV in Verbindung bringen (Uzelac-Keserovic et al. 2000, Hassler et al. 2005). Besondere Beachtung fanden diese Ergebnisse vor allem in Bezug auf die MS. Nachdem bekannt



wurde, daß HCoV in vitro Zellkulturen von humanen Oligodendrozyten und Mikrogliazellen infizieren können (Arbour et al. 1999), folgten Studien, die anhand der rt-PCR das Vorkommen von HCoV in zerebralen Biopsien verstorbener Patienten mit neurologischen Erkrankungen nachweisen konnten (Arbour et al. 2000, Edwards et al. 2000). Gesichert sind diese Ergebnisse jedoch noch nicht. So verglich Dessau et al. (2001) Gehirngewebe von Gesunden und mit dem von MS-Erkrankten und fand hierbei keinen signifikanten Unterschied im Vorkommen von HCoV. Dennoch unterstreichen diese Hinweise insgesamt die pathogenetische Relevanz von HCoV.

#### **2.2.2.7 Diagnostische Methoden der HCoV-Infektion:**

Bis zum Auftreten von SARS im November 2002 wurden nur in wenigen klinischen Laboratorien Proben routinemäßig auf HCoV hin untersucht. Die bis dahin herrschende Erkenntnis, daß HCoV überwiegend unkompliziert verlaufende OAW-Infektionen auszulösen vermag sowie der Mangel an breit einsetzbaren approbaten diagnostischen Mitteln begründete wohl diese Entwicklung seit der Entdeckung des Virus im Jahre 1965 (Vabret et al. 1998). Eine Änderung dieser Tatsache bewirkte das Auftreten von SARS, das zu einer Renaissance in der Erforschung geeigneter diagnostischer Methoden führte.

Im folgenden werden die verschiedenen diagnostischen Möglichkeiten genannt, die zum direkten oder indirekten Nachweis einer Virusinkubation bzw. manifesten Infektion mit HCoV zur Verfügung stehen.

##### **2.2.2.7.1: Zellkultur:**

Es ist äußerst schwierig, HCoV in Zellkulturen zu isolieren. Nur bei einzelnen Stämmen von HCoV gelingt die Virusvermehrung in speziellen Zelllinien, wie z.B. in humanen diploiden MRC-5-Zellen, die von embryonalen Lungenfibroblasten abstammen (Phillipotts et al. 1983). So konnte HCoV 229E von MacNaughton et Madge (1978) erfolgreich in MRC-Zellen kultiviert werden. Die Sensibilität zur Detektion von HCoV ist jedoch gering, so daß diese Methode in der klinischen

Routinediagnostik wenig geeignet erscheint (Riski et Hovi 1980). So bleibt die Zellkultur eher der Forschung vorbehalten (Vabret et al. 1998).

#### **2.2.2.7.2: Elektronenmikroskopie:**

Aufgrund der morphologisch charakteristischen Merkmale von HCoV ist die Elektronenmikroskopie ein probates Mittel zum direkten Virus-Nachweis. Allerdings ist diese Methode aufwendig und kompliziert, weist nur eine geringe Sensitivität auf und ist deswegen nicht zur Routinediagnostik geeignet. Des weiteren ist eine Unterscheidung der einzelnen Stämme aufgrund des ähnlichen Erscheinungsbildes unmöglich (Vabret et al. 1998).

#### **2.2.2.7.3: Direkter Virusantigen-Nachweis:**

Zum Antigennachweis stehen Methoden wie IFT oder Enzymimmunoassays (EIA) zur Verfügung (Gerth 1983). Hierbei können sowohl intrazelluläre als auch extrazelluläre Antigene in z.B. Sekreten des Respirationstraktes direkt nachgewiesen werden. Nachteilig beim Antigennachweis ist jedoch eine notwendige Mindestkonzentration an Virusmaterial sowie ein enges zeitliches Fenster der Virusvermehrung, um ein positives Ergebnis zu erzielen (Vabret et al. 1998). Die Sensibilität des Nachweises hängt zudem vollständig von der Spezifität des zur Detektion des entsprechenden Virus eingesetzten Ak's ab. Für HCoV ist zu diesem Zweck nur ein einziger kommerziell erhältlicher Ak verfügbar, der PIV-1146 von Argène, Frankreich. Dieser ist jedoch nur für HCoV 229E geeignet und es wird sogar vermutet, daß selbst bei dem HCoV 229E-Wildtyp die Sensibilität dieses Ak's gering ist (Vabret et al. 1998).

#### **2.2.2.7.4: Molekulare Nachweismethoden:**

Die rt-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) ist das modernste Verfahren zum Nachweis von HCoV und weist gleichzeitig die höchste Sensibilität und Spezifität auf. Das Verfahren ist als „single-step“- Verfahren oder als nested-PCR möglich. Beim Nachweis von HCoV werden vor allem hochkonservierte Regionen des

Genoms, wie sie zum Beispiel für das Nucleocapsidprotein N oder das Membranprotein M codieren, verwendet (Vabret et al. 1998).

#### **2.2.2.7.5: Serologische Methoden/Ak-Nachweis:**

Serologische Methoden basieren auf der Ermittlung von spezifischen Ak gegen ein entsprechendes Virus, um auf einen immunogenen Kontakt der Person mit diesem Erreger zu schließen. Zur Detektion von Ak werden verschiedene Verfahren eingesetzt. Die Serum-Neutralisation (Schmidt et al. 1982), der direkte oder indirekte Immunfluoreszenztest (IFT) (Pohl-Koppe et al. 1995, Monto et al. 1977), der Western Blot (Pohl-Koppe et al. 1995) oder die ELISA-Technik (Kraaijeveld et al. 1980). In der klinischen Routine werden häufig serologische Methoden zur Analyse von Ak gegen das entsprechende Virus angewendet. In der HCoV-Diagnostik wurden hierzu in den bisherigen Studien jeweils Ak der Gruppe IgG zum Nachweis der akuten Infektion herangezogen. Dieses macht jedoch paarweise abgenommene Serumproben eines Patienten in einem Mindest-Zeitabstand von 15 Tagen erforderlich, da nur der Anstieg eines IgG-Ak-Titers letztlich eine Akutinfektion beweisen kann (Vabret et al. 1998). Diese Vorgehensweise kann vereinfacht und präzisiert werden, indem IgM-Ak zum serologischen Nachweis verwendet werden, da diese ausschließlich bei der Akutinfektion auftreten und so bereits das Vorhandensein von IgM-Ak als Nachweis der Infektion dienen kann.

Bisher wurden aber trotz dieses Vorteils noch keine Studien veröffentlicht, bei denen IgM-Ak zum Nachweis einer akuten HCoV-Infektion herangezogen wurden, obwohl dieses Verfahren bei anderen Viren wie Adeno, RSV oder PIV erfolgreich in der klinischen Routine eingesetzt wird. Erst seit SARS wird ein IFT zur Detektion von IgM-Ak bei einem CoV durchgeführt. Hierbei wird eine Sensitivität und Spezifität von über 90% erreicht (Fang et al. 2003). Unsere Studie ist die erste Arbeit, die mittels des IFT auf der Detektion von IgM-Ak zum Nachweis einer Akutinfektion mit HCoV 229E basiert.

### **3. Material und Methode:**

#### **3.1 Material:**

##### **3.1.1 Studienpopulation für den IgM-Ak-Nachweis gegen RSV, PIV 1-3 und Adenovirus**

Der Studienort war die Haunersche Kinderklinik in München, Deutschland. Der Studienzeitraum betrug 2 Jahre, vom 01.01.1992 bis 31.12.1993.

In dieser Studie wurden Serumproben von pädiatrischen Patienten untersucht, die von den behandelnden Ärzten der Haunerschen Kinderklinik zur Bestimmung von IgM-Ak gegen Viren des Respirationstraktes (RSV, Adeno, PIV 1-3) in das, an die Klinik angebundene Viruslabor der Friedrich-Baur-Stiftung, München, Deutschland, eingesandt wurden. Bei der Studienpopulation handelte es sich im wesentlichen um Patienten, die aufgrund von Symptomen einer Atemwegsinfektion in der Haunerschen Kinderklinik entweder ambulant oder stationär behandelt wurden oder die bereits aufgrund anderweitiger Erkrankungen in der Haunerschen Kinderklinik betreut wurden und währenddessen Symptome einer Atemwegsinfektion entwickelten. Im Beobachtungszeitraum wurden insgesamt 1162 Patientenserum (1992: 611 Seren, 1993: 551 Seren) zur Untersuchung auf die Viren RSV, Adeno- und Parainfluenzavirus Typ 1-3 eingesandt. Serumproben wurden ausgeschlossen, wenn erstens vom gleichen Patienten eine vorangehende Serumprobe, die in einem Zeitraum von weniger als 4 Wochen abgenommen wurde, eingesendet wurde, zweitens, wenn die Serumprobe nur auf einzelne Virustypen gezielt untersucht wurde und drittens, wenn die Diagnose des Patienten unklar war. Insgesamt wurden so 38 Serumproben (1992: 16 Seren, 1993: 22 Seren) ausgeschlossen.

Von den verbliebenen 1124 Serumproben (1992: 595 Seren, 1993: 529 Seren) wurden 178 Patienten, die eine unspezifische Infektion ohne sichere AW-Symptomatik (n=141) bzw. einen infektsbedingten Krampfanfall (Fieberkrampf) hatten (n=37), nicht in die Auswertung der IgM-Ak gegen RSV, Adeno und PIV 1-3 einbezogen.

Die Studienpopulation bestand somit aus 946 Serumproben (1992: 513 Serumproben, 1993: 433 Serumproben) von pädiatrischen Patienten mit akuter AW-Symptomatik. Die aufgenommenen Patienten wiesen hierbei verschiedene Diagnosen mit zum Teil begleitenden Grunderkrankungen auf, die in verschiedene Diagnosegruppen zusammengefaßt wurden. Abb.9 illustriert das Spektrum und die Häufigkeit der Diagnosen der in dieser Studie untersuchten Patienten.

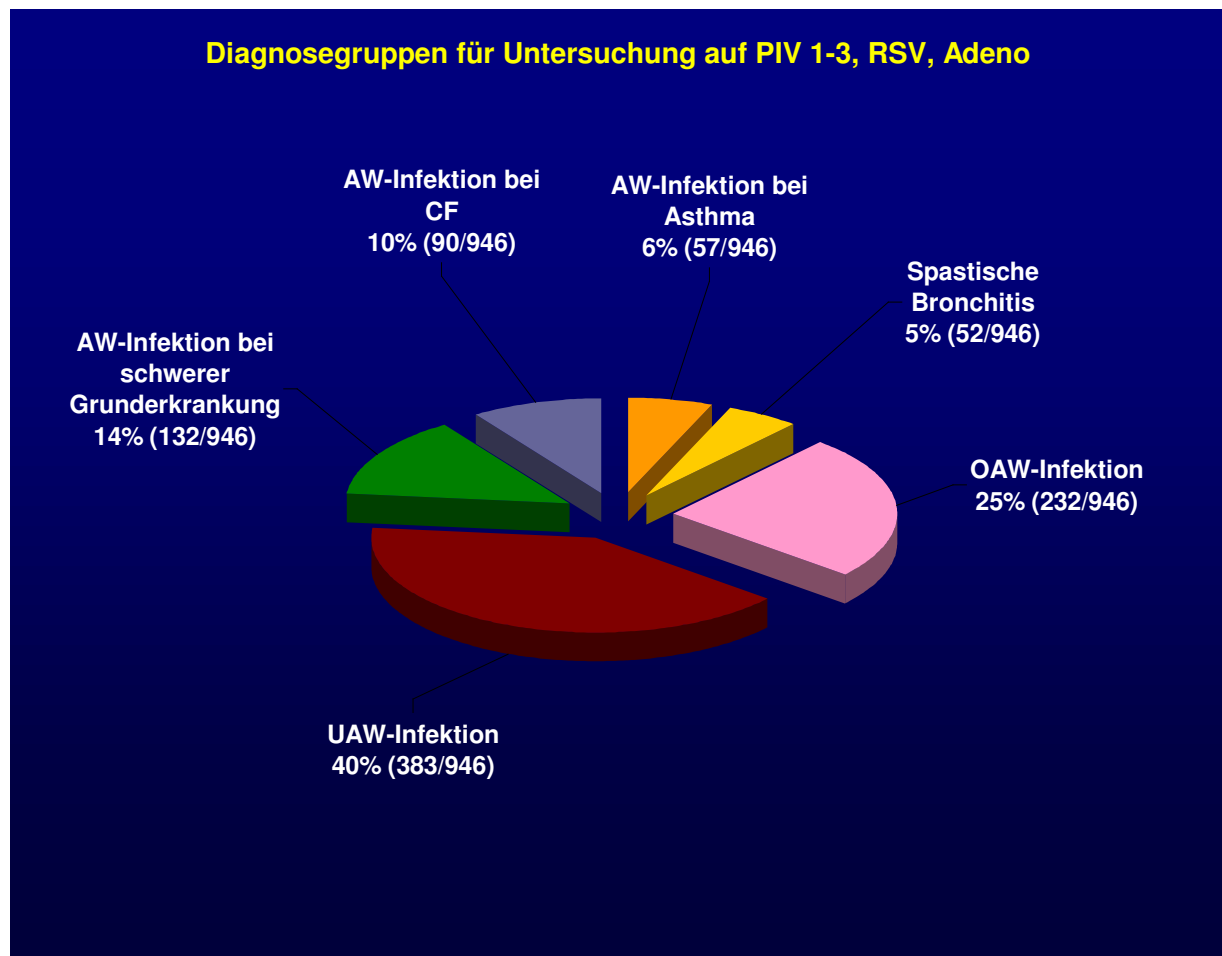


Abb.9: Diagnosenverteilung der Studienpopulation für PIV 1-3, RSV und Adenovirus

Bei 232 Patienten (25%, 232/946) lagen Symptome einer oberen Atemwegsinfektion vor bzw. eine AW-Infektion ohne spezifische Beteiligung der unteren Atemwege, wobei hier auch die zervikalen Lymphadenopathien mit einbezogen wurden. Diese Gruppe wurde entsprechend mit „OAW-Infektion“ bezeichnet. 383 Patienten (39%, 435/1124) wurden in eine Gruppe mit der Bezeichnung „UAW-Infektion“ zusammengefaßt. In diese Diagnosegruppe wurden Patienten eingruppiert, die mit Husten, Bronchitis, Bronchopneumonie oder Pneumonie Zeichen einer Infektion der

unteren Atemwege aufwiesen. Patienten mit spastischer Bronchitis wurden einer eigenen Gruppe „Spastische Bronchitis“ (5%, 52/946) zugeordnet, da hier durch das hyperreagible AW-System eventuell ein differentes Erregerspektrum vorliegt. Eine weitere Diagnosegruppe wurde aus 57 Patienten (6%, 57/946) gebildet, bei denen bereits im Vorfeld ein Asthma bronchiale bekannt war und die entweder eine akute AW-Infektion oder eine Exazerbation ihres Asthmas aufwiesen. Diese Gruppe wurde als „Asthma bronchiale“ bezeichnet. Bei 90 Patienten der Studienpopulation (10%, 90/946) bestand die Diagnose einer akuten Atemwegsinfektion bzw. einer respiratorischen Verschlechterung bei bekannter Diagnose einer Cystischen Fibrose (CF). Diese Gruppe wurde folglich mit „AW-Infektion bei CF“ bezeichnet.

Bei 132 Patienten (14%, 132/946) war neben den Symptomen einer akuten Atemwegsinfektion eine anderweitige schwere Grunderkrankung bekannt bzw. wurde diagnostiziert. Bei diesen Patienten bestand aufgrund ihrer Grunderkrankung ein möglicherweise alteriertes Immunsystem, so daß hier ein verändertes Erregerspektrum unter Beteiligung auch weniger virulenter Erreger mit in Betracht gezogen werden konnte. In dieser Gruppe mit der Bezeichnung „Atemwegsinfektion bei schwerer Grunderkrankung“ wurden folglich alle Patienten subsummiert, die begleitend zu Ihrer akuten AW-Infektion entweder an einer schweren Infektion mit z.B. HIV erkrankt waren, an einer malignen Erkrankung litten, eine angeborene cardiopulmonale Fehlbildung, einen Zustand nach Chemotherapie oder einen Zustand nach schwerem chirurgischem Eingriff wie zum Beispiel Knochenmarkstransplantation oder ähnliches aufwiesen. Ebenso wurden in diese Gruppe Patienten, die ein bereits bekanntes Immundefektsyndrom besaßen, miteinbezogen.

Das Durchschnittsalter der 946 untersuchten Patienten betrug 4,4 Jahre (0 Monate - 29 Jahre) (1992: 4,0 Jahre, 1993: 4,9 Jahre), wobei 21% (201/946) 0-12 Monate, 24% (231/946) 13-24 Monate, 23% (217/946) 2-5 Jahre und 26% (249/946) zwischen 6 und 16 Jahren alt waren. Bei den 5% (48/946) der Patienten über 16 Jahren handelte es sich oftmals um Patienten mit Cystischer Fibrose (CF), so daß in dieser Diagnosegruppe das Durchschnittsalter 15 Jahre betrug. Den jüngsten Altersdurchschnitt wiesen mit 3,0 und 3,1 Jahren Patienten mit spastischer Bronchitis und OAW-Infektionen auf. Bei

Patienten mit UAW-Infektion betrug der Altersdurchschnitt 3,5 Jahre und bei Patienten mit AW-Infektion bei schwerer Grunderkrankung 5,9 Jahre. Patienten mit Asthma wiesen einen Altersdurchschnitt von 4,0 Jahren auf.

Die Geschlechtsverteilung männlich zu weiblich betrug ca. 3:2 (m:w 568/378, 1992: m:w 309/204, 1993: m:w 259/174).

Bei Betrachtung der beiden einzelnen Untersuchungsjahren gab es in Hinsicht auf die Diagnoseverteilung sowie der Altersstruktur keine statistisch relevanten Unterschiede.

### **3.1.2 Studienpopulation für den Nachweis von Antikörpern gegen HCoV**

Von den 1124 Serumproben (siehe 3.1.1) wurden diejenigen Seren auf HCoV 229E-IgM-Ak und -IgG-Ak hin getestet, die in den vorhergehenden Untersuchungen negative Testresultate für IgM-Ak gegen RSV, Adeno und PIV 1-3 aufwiesen (n=532). Patienten, bei denen sich Hinweise auf eine andere spezifische Infektionskrankheit (z.B. Pertussis) ergaben oder von denen nicht ausreichend Serum vorhanden war (mindestens 50 µl), wurden von der Auswertung ausgeschlossen. So verblieben zur Untersuchung von HCoV-IgG- und -IgM-Ak 397 Serumproben von 370 Patienten (1992: 203 Patienten mit 222 Seren, 1993: 167 Patienten mit 175 Seren). Bei dieser Selektion der Studienpopulation kam es nicht zu einer statistisch relevanten Verschiebung der Häufigkeit der einzelnen Diagnosen unter Berücksichtigung der Patienten mit unspezifischer Infektion (siehe Abb.10).

Das Durchschnittsalter dieser Patienten betrug 4,4 Jahre (0 Monate - 29 Jahre) (1992: 4,3 Jahre, 1993: 4,5 Jahre), wobei 26% (95/370) 0-12 Monate, 18% (67/370) 13-24 Monate, 22% (83/370) 2-5 Jahre und 33% (124/370) 6 Jahre und älter waren. Die Altersverteilung dieser Studiengruppe unterscheidet sich somit statistisch nicht signifikant von der Altersverteilung der Studienpopulation zur Bestimmung der IgM-Ak gegen PIV 1-3, RSV und Adenovirus (siehe Punkt 3.1.1).

Das Geschlechtsverhältnis männlich zu weiblich lag bei etwa 3:2 (m:w 225:145; 1992: m:w 123:80; 1993: m:w 102:65).

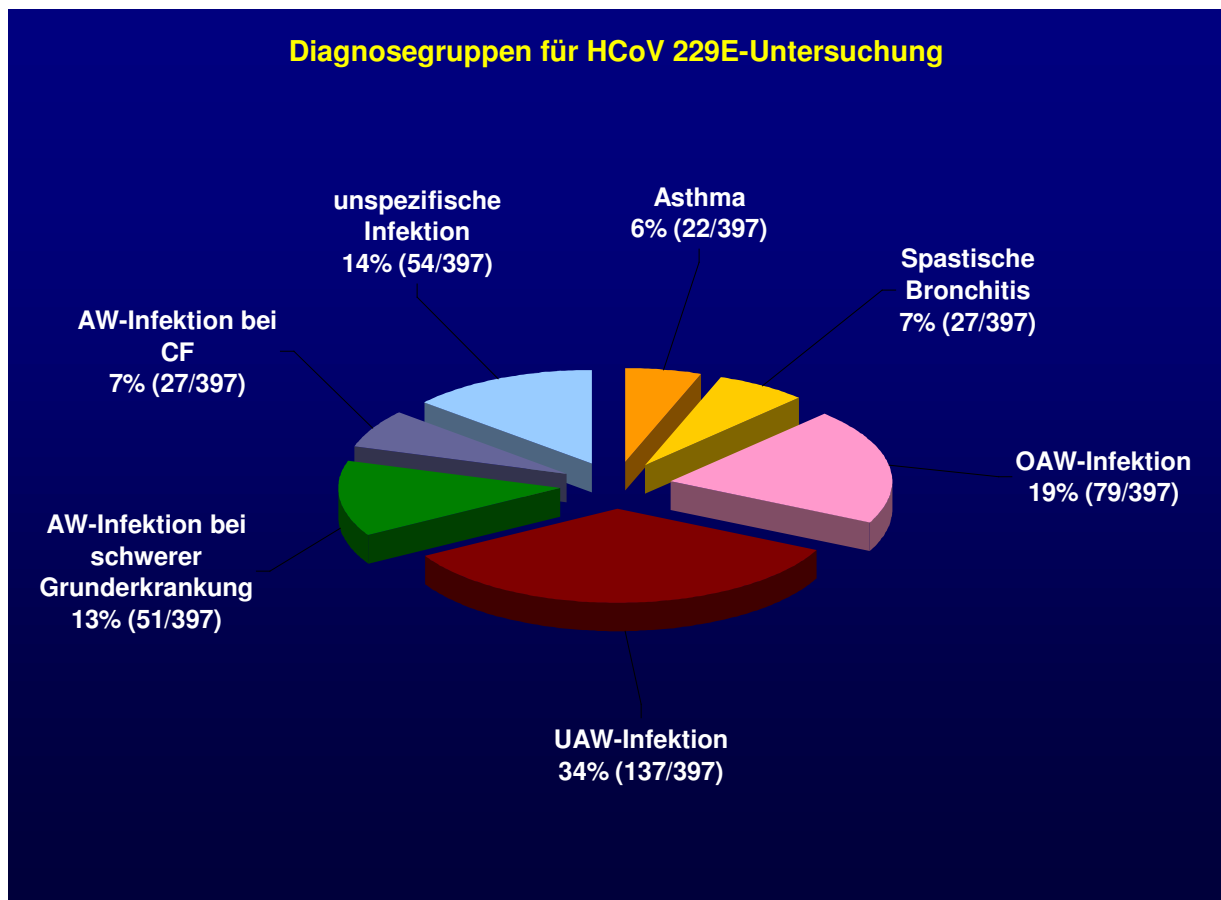


Abb.10: Diagnosenverteilung der HCoV-Studienpopulation

Zur Beurteilung der Durchseuchungsrate der pädiatrischen Patienten mit HCoV 229E, festgestellt anhand des Nachweises von IgG-Ak gegen HCoV 229E, wurden die Patienten in Altersgruppen eingeteilt. Die Gruppierung erfolgte, ausgehend vom Alter zum Zeitpunkt der Serumabnahme, in eine Gruppe von 0 bis 6 Monaten (n=54), da in dieser Gruppe maternale IgG-Ak im Blut des Neugeborenen vorhanden sein könnten, in eine Gruppe von 7 bis 24 Monaten (n=107), in eine Gruppe von 2 bis 4 Jahren (n=92), in eine Gruppe von 5 bis 7 Jahren (n=39) und letztlich in eine Gruppe mit Patienten von 8 Jahren und älter (n= 78).

Bei 20 Patienten waren im Verlauf des Studienzeitraums 2 oder mehr Serumproben (insgesamt 47 Serumproben) zur virologischen Diagnostik eingesandt worden. Hierbei



zählte jeder dieser Patienten bei der Ermittlung der Durchseuchungsrate nur einmal entsprechend dem Ergebnis der IgG-Ak-Testung bei der Erstabnahme.

Bei den Patienten, die einen positiven IgM-Ak-Nachweis gegen HCoV 229E aufwiesen, wurden retrospektiv die Patientendaten sowie die Klinik und die diagnostischen Ergebnisse anhand der Patientenakte aufgearbeitet.

## **3.2 Methode**

### **3.2.1 Virologisches Testmaterial und Reagentien**

Indirekter IFT zum Nachweis von IgM im Patientenserum gegen RSV, Adeno und PIV 1-3 sowie zum Nachweis von IgA gegen Bordetella pertussis Toxin:

- kommerzielle Testkits von der Firma BIOS Labordiagnostik GmbH, 82166 Gräfelfing, Deutschland

Indirekter IFT zum Nachweis von IgG und IgM gegen HCoV 229E im Patientenserum:

Von Prof. Stuart Siddell, Würzburg, Deutschland, freundlicherweise zur Verfügung gestellt:

- 1.) MRC-5 Zellen in der 26. Passage (26.11.1996); 2.) Virusstock 229E in einer Konzentration von  $3,7 \times 10^6$  Viren/ml; 3.) HCoV 229E-IgG-Ak von der Maus; 4.) Anti-IgG-Fluoreszin-markierte-Ak (Ziege-gegen-Maus-IgG) von Jackson Immuno Research Laboratories, Inc., West Grove, USA

Kommerziell erworben wurden:

- Anti-human-IgG-Fluoreszin(FITC)-markierte-Ak und Anti-human-IgM-Fluoreszin (FITC)-markierte-Ak von BIOS Labordiagnostik GmbH, 82166 Gräfelfing, Deutschland; RF (Rheumafaktor)-Adsorbens von BIOS Labordiagnostik GmbH, 82166 Gräfelfing, Deutschland; Minimum essential medium (MEM) mit Earle's Salzen, Nonessential aminoacids (100x) und Fetal calf serum (FCS) von GIBCO,

76344 Eggenstein, Deutschland ; Zellkulturflasche mit Filter, 175cm<sup>2</sup> und 300cm<sup>2</sup> von FALCON, 69124 Heidelberg, Deutschland; Trypsin-EDTA von SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, 82024 Taufkirchen, Deutschland; DMSO (Dimethyl-Sulfoxid), Objektträger mit 8 diagnostischen Feldern und 96-well-Platte von Merck KG, 64293 Darmstadt, Deutschland; PBS (phosphat buffered saline), Aceton 100% und Glycerin von Carl ROTH GmbH, 76185 Karlsruhe, Deutschland;

### **3.2.2 Virologische Analysemethode**

Die virologische Diagnostik gegen RSV, Adenovirus und PIV 1-3 wurde im Viruslabor der Friedrich-Baur-Stiftung, München, Deutschland, durchgeführt. Die kommerziellen indirekten IFT's zum Nachweis von IgM-Ak im Patientenserum gegen die Viren des Respirationstraktes RSV, Adenovirus und PIV 1-3 wurden entsprechend den von den Firmen angegebenen Protokollen durchgeführt.

Die Serumproben der HCoV-Studienpopulation wurden dann mit einem für diese Studie eigens hergestellten, indirekten IFT auf IgG- und IgM-Ak gegen HCoV 229E hin getestet. Der indirekte IFT wurde nach dem Protokoll von Prof. Stuart Siddell, Institut für Virologie der Universität Würzburg, Deutschland, erstellt (Pohl-Koppe et al. 1995). In der zitierten Arbeit wurde dieser IFT mit den Seren von 10 Probanden, die experimentell mit HCoV 229E infiziert wurden, validiert und mit der Western Blot-Analyse verglichen. Hierbei konnte bei allen 10 Testpersonen ein positiver HCoV 229E-Ak Nachweis erzielt werden.

Die Bewertung der Ergebnisse des indirekten HCoV-229E-IFT wurde von 2 unabhängigen Untersuchern durchgeführt.

Die Lagerung der Serumproben erfolgte bei -20°C.

Im folgenden werden die einzelnen Schritte zur Erstellung des indirekten IFT gegen HCoV 229E aufgeführt.

### **3.2.2.1 Herstellung des indirekten IFT gegen HCoV 229E**

#### **3.2.2.1.1 Kultivierung MRC-5 Zellen**

Zur Virusvermehrung von HCoV 229E wurden MRC-5 Zellen angezüchtet. MRC-5 Zellen sind embryonale Lungenfibroblasten humaner Abstammung, die bereits erfolgreich zur Viruskultivierung und -reproduktion von HCoV 229E eingesetzt werden konnten (Phillipotts et al. 1983, Patterson et al. 1981, Vabret et al. 2001).

Als Kulturmedium (K-Medium) wurde eine Mischung aus 90% MEM mit Earles Salzen, 1% Nonessential Aminoacids sowie 9% FCS verwendet. Die Zellen wurden zügig aufgetaut und in 10 ml K-Medium aufgenommen. Die Zentrifugation der Zellsuspension erfolgte mit 2000 rounds per minute (rpm) über 5 Minuten bei 20° Celsius. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und das Pellet erneut in 10 ml K-Medium aufgenommen. Nach Vorbereitung einer mittleren Zellkulturflasche (175cm<sup>2</sup>) mittels Einbringen von 40 ml K-Medium wurde die Zellsuspension einpipettiert und in der Zellkulturflasche im Brutschrank bei 37° Celsius und einer CO<sub>2</sub>-Spannung von 5% bebrütet. Nach ca. 7 Tagen hatte sich ein dichter Zellrasen gebildet. Dieser wurde mit 2-3 ml Trypsin-EDTA abgelöst und in 10 ml K-Medium aufgenommen mit anschließender Zentrifugation des Suspensats bei 2000 rpm über 5 min und 20°C. Nach Verwerfen des Überstands wurde das Zellpellet unter Zugabe von 10 ml K-Medium erneut mit 2000 rpm über 5 min zentrifugiert. Insgesamt wurde dieser Vorgang zur Waschung der Zellen 3 mal wiederholt. Zur Zellvermehrung erfolgte dann eine Splittung im Verhältnis 1:2. Nach Vorbereitung von 2 mittleren Zellkulturflaschen mit Einbringen von je 40 ml K-Medium wurden je 5 ml des Zellsuspensats in die Zellkulturflaschen einpipettiert und unter vorsichtigem Schwenken verteilt. In oben genannter Weise wurden die Zellen bis zur 34. Passage weiter gesplittet, so daß letztlich 10 große Zellkulturflaschen (300cm<sup>2</sup>) angelegt wurden.

### **3.2.2.1.2 Einfrieren der MRC-5 Zellen**

Die MRC-5 Zellen wurden mit Trypsin-EDTA aus den großen Zellkulturflaschen gelöst und anschließend nach Zentrifugation mit 2000 rpm über 5 min und Verwerfen des Überstands in 1 ml Einfriermedium (90% FCS und 10% DMSO) resuspendiert. Danach erfolgte die Konservierung in Gefrier Röhrchen für 30 min bei -20° C mit anschließender Lagerung bei -80° C.

### **3.2.2.1.3 Viruskultivierung und Virustiterbestimmung:**

Zur Viruskultivierung wurde ein Virusstock HCoV 229E in einer Konzentration von  $3,7 \times 10^6$  herangezogen. Um eine große, bewachsene Zellkulturflasche mit einer geschätzten Zellzahl von  $5 \times 10^6$  MRC-5 Zellen mit HCoV 229E in einer multiplicity of infection (m.o.i.) von 0,05-0,1 ( $\cong$  5-10% der Zellen) zu infizieren, wurde der Zellrasen einer großen Flasche mit  $4,8 \times 10^5$  Viren, entsprechend 130  $\mu$ l des Virusstocks inkubiert. Diese wurden mit 13ml K-Medium vermengt und nach Abpipettieren des verbrauchten Nährmediums der großen Zellkulturflasche über den Zellrasen geschichtet. Die Zellkulturflasche wurde anschließend bei 33°C mit einer CO<sub>2</sub>-Spannung von 5% über 44h bebrütet. Nach Abpipettieren des so gewonnenen virushaltigen Überstands wurde dieser in Portionen zu je 1 ml in Gefriertubes bei -80°C eingefroren.

Zur exakten Virustiterbestimmung des Überstands wurde die TCID<sub>50</sub>-Methode (Tissue culture infection dose, bei der 50% der Zellen infiziert werden) verwendet. Auf einer 96-Well- Platte wurden nach Vorbereitung von 100  $\mu$ l K-Medium mit MRC-5 Zellen pro well 100  $\mu$ l des virushaltigen Überstands in unten aufgeführter Verdünnungsreihe verimpft.

Virusstockverdünnungsreihe:

- 1 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml virushaltiger Überstand
- 2 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -1 Verdünnung
- 3 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -2 Verdünnung
- 4 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -3 Verdünnung
- 5 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -4 Verdünnung
- 6 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -5 Verdünnung
- 7 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -6 Verdünnung
- 8 = 1,8 ml Medium + 0,2 ml von -7 Verdünnung

Abgelesen wurde nach einer 7 tägigen Bebrütungsdauer bei 33°C und 5% CO<sub>2</sub>-Spannung. Hierbei ergab sich das in Tabelle 2 aufgeführte Ergebnis.

Dilution	Wells			accumulated values (cells)			
	MR	Died	Survived	MR	Died	Survived	Mortality (%)
-1	12/12	12	0	51/51	51	0	100
-2	12/12	12	0	39/39	39	0	100
-3	12/12	12	0	27/27	27	0	100
-4	11/12	11	1	15/16	15	1	94
-5	3/12	3	9	4/14	4	10	29
-6	1/12	1	11	1/22	1	21	4,5
-7	0/12	0	12	0/33	0	33	0
-8	0/12	0	12	0/45	0	45	0

Tabelle 2: Ermittlung der Viruskonzentration von HCoV 229E durch Bestimmung der Mortality Ratio (MR) auf einer 96-well-Platte

Um nun die LD50 (Letale Dosis für 50% der Zellen) festzustellen, wurde die proportional distance aus dem Verhältnis von mortality>50% - 50 zu mortality>50% - mortality<50% berechnet. Dieses Ergebnis wurde anschließend zum negativen Logarithmus der dilution mit mortality>50% addiert und ergab somit den negativen Logarithmus der LD50. Nach Umrechnung betrug die LD50 des gewonnenen virushaltigen Überstands  $5 \times 10^5$  Viren/ml.

#### **3.2.2.1.4 Herstellung der Objektträger für den indirekten IFT:**

Die MRC-5 Zellen einer mittleren Zellkulturflasche wurden mit dem austitrierten Virusstock (Konzentration  $5 \times 10^5$  Viren/ml) in einer m.o.i. von 0,5 infiziert. Dies entsprach bei einer geschätzten Zellzahl einer mittleren Zellkulturflasche von  $5 \times 10^5$  Zellen einer Virusmenge von  $2,5 \times 10^5$  Viren. Somit wurden 500 µl des Virusmediums mit 6 ml K-Medium vermischt, die Zellen der mittleren Zellkulturflasche damit bedeckt und für 1 Stunde bei 33°C und 5% CO<sub>2</sub>-Spannung bebrütet. Danach erfolgte die Zugabe von 30 ml Nährmedium mit erneuter Bebrütung bei 33°C für weitere 23h. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und die Zellen mit 3 ml Trypsin-EDTA abgelöst. Nach 2 maliger Waschung mit 10 ml PBS wurden die Zellen in 10 ml PBS resuspendiert und hiervon eine Verdünnungsreihe mit PBS hergestellt. Unter mikroskopischer Kontrolle wurde nun die optimale Zellkonzentration pro Objektträgerfeld ermittelt. Die Fixierung der Objektträger (OT) erfolgte anschließend mit 100%igem Aceton. Die OT wurden für 15 Minuten in Aceton gebadet und anschließend bei Raumtemperatur getrocknet. Danach wurden die OT's für 10 Minuten in PBS gewaschen und nach erneuter Trocknung bei -20° gelagert.

#### **3.2.2.2 Durchführung des indirekten IFT gegen HCoV 229E:**

##### **3.2.2.2.1 Prüfung der Testtauglichkeit der hergestellten Objektträger:**

Als Positivkontrolle kam ein Mouse-anti-HCoV-IgG-Ak zum Einsatz. Von diesem wurde eine Verdünnungsreihe mit PBS in 10er Schritten bis zur 1000fachen Verdünnung angelegt. Anschließend wurden jeweils 30 µl auf die OT-Felder aufgetragen. Als Negativ-Kontrolle kam H<sub>2</sub>O zur Anwendung. Die Inkubation der Felder erfolgte über 45 Minuten bei 37°C. Nach 2 maliger Waschung der OT's in PBS über je 10 min wurden jeweils 30 µl Anti-IgG-Fluoreszin-markierte Antikörper (Goat-anti-mouse-IgG in einer Verdünnung von 1:100) aufgetragen. Es erfolgte eine erneute Inkubation bei 37° C über 45 Minuten. Nach weiterer 2 maliger Waschung mit PBS über je 10 min und Lufttrocknung der OT-Felder wurden diese nach Auftragen von Glycerin unter einem Deckglas konserviert. Bei der Auswertung im

Fluoreszenzmikroskop ergab sich ein deutlich ablesbares positives Ergebnis der Mouse-HCoV-IgG-Ak-Felder in der unverdünnten bis hin zur 100-fach verdünnten Anwendung, die 1000-fache Verdünnung war noch schwach positiv. Es zeigte sich ein fein gesprenkeltes, grünlich fluoreszierendes Muster im Cytoplasma der Zellen, die Negativ-Kontroll-Felder waren nur rötlich eingefärbt.

Zudem wurden zur Überprüfung des IFT-IgM-Assays gegen HCoV 229E 10 Seren von Patienten mit positivem RSV-IgM-Ak getestet. Alle untersuchten Seren waren negativ.

### **3.2.2.2.2 Anwendung des indirekten IFT:**

#### **3.2.2.2.2.1 Nachweis von IgG-Ak gegen HCoV 229E:**

Von den Serumproben wurden 20 µl mit PBS im Verhältnis 1:10 verdünnt mit anschließendem Auftragen von jeweils 30 µl auf ein OT-Feld. Als Positiv-Kontrolle diente ein bei einer Versuchstestreihe als positiv identifiziertes Serum eines Kindes. Als Negativ-Kontrolle wurde H<sub>2</sub>O verwendet. Die Inkubation der beschichteten OT's erfolgte bei 37° C über 45 Minuten. Anschließend wurden nach 2 maligem Waschen der OT's mit PBS je 30 µl IFTC-markierte-Anti-IgG-Ak aufgetragen und erneut bei 37° C über 30 Minuten inkubiert. Nach 2 maliger Waschung mit PBS wurden dann die OT's nach Abtrocknung mit Glycerin beschichtet und unter einem Deckglas konserviert.

#### **3.2.2.2.2.2 Nachweis von IgM-Ak gegen HCoV 229E:**

Von den Serumproben wurden 20 µl mit PBS im Verhältnis 1:10 verdünnt. Als Negativ-Kontrolle diente wiederum H<sub>2</sub>O. Als Positiv-Kontrolle stand ein, bei einer Testreihe als positiv identifiziertes Serum zur Verfügung. Anschließend gaben wir zum verdünnten Serum RF-Adsorbens im Verhältnis 1:1 hinzu und inkubierten im Kühlschrank bei +6° C über 15 Minuten, um danach je 30 µl auf die OT-Felder aufzutragen und bei 37° C über 75 Minuten zu inkubieren. Nach 2 maligem Waschen der OT's mit PBS wurden je 30 µl IFTC-markierte-Anti-IgM Antikörper auf die OT-

Felder aufgetragen und erneut bei 37° C über 30 Minuten inkubiert. Nach anschließender 2 maliger Waschung mit PBS wurden die OT's nach Abtrocknung mit Glycerin beschichtet und unter einem Deckglas konserviert.

#### **3.2.2.2.3 Beurteilung der Testergebnisse:**

Die Beurteilung der angefertigten Objektträger des indirekten IFT gegen HCoV 229E-IgG-Ak und -IgM-Ak erfolgte am Immunfluoreszenz-Mikroskop durch 2 unabhängige Untersucher. Die Ergebnisse für die IgG- und IgM-Testung wurden als positiv, schwach positiv oder negativ eingestuft. Die Proben wurden dann als positiv gewertet, wenn sich im UV-Licht fein verteilte grünlich leuchtende Granula im Cytosol der Zelle zeigten.



## 4. Ergebnisse

### 4.1 Viren des Respirationstraktes Adenovirus, RSV, PIV 1-3

#### 4.1.1 Virale IgM-Ak-Nachweise bei den Patienten der Studienpopulation

Bei 498 (53%) der 946 getesteten Patienten konnten IgM-Ak gegen RSV, Adeno oder PIV 1-3 nachgewiesen werden (Abb.11). Hierbei gab es neben den Patienten mit nur einem IgM-Ak-Nachweis auch Patienten mit mehreren IgM-Ak-Nachweisen gegen die untersuchten Viren.

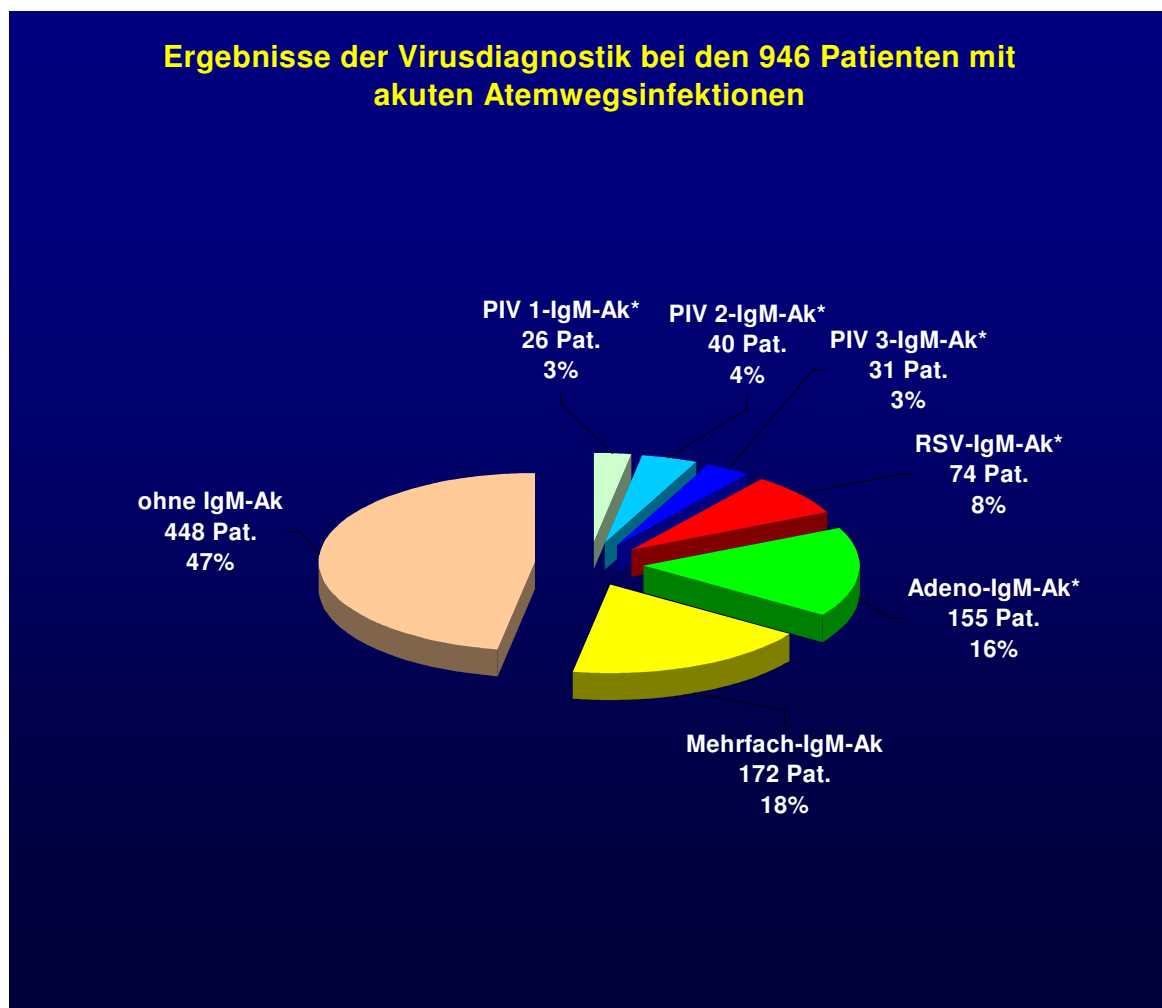


Abb.11: Ergebnisse der Virusdiagnostik bei der Studienpopulation (\*=dargestellt sind Seren mit nur einem einzelnen IgM-Ak-Nachweis)

So fanden sich bei ca.  $\frac{2}{3}$  der 498 positiv getesteten Patienten (65%, 326/498) jeweils nur ein spezifischer IgM-Ak-Nachweis gegen entweder RSV, Adeno oder PIV 1-3. Die meisten dieser Patienten wiesen Adeno-IgM-Ak (16%, 155/946) auf, gefolgt von 97 Patienten (10%, 97/946) mit einem IgM-Ak-Nachweis gegen eines der PIV-

Serotypen 1-3. Hierbei gab es weniger Patienten mit PIV 1-IgM-Ak (3%, 26/946) bzw. PIV 3-IgM-Ak (3%, 31/946) als mit IgM-Ak gegen PIV 2 (4%, 40/946). Bei 74 Patienten fanden sich isoliert IgM-Ak gegen RSV (8%, 74/946).

Bei ca.  $\frac{1}{3}$  (35%, 172/498) der IgM-Ak-positiven Patienten konnten in einer Serumprobe mehrere IgM-Ak-Nachweise gleichzeitig gegen RSV, Adeno oder PIV 1-3 beobachtet werden. So wurden bei diesen 172 Patienten insgesamt 397 IgM-Ak-Nachweise gegen die getesteten Viren des Respirationstraktes gefunden (siehe auch Punkt 4.1.2).

Bei 448 von den 946 getesteten Patienten (47%) konnten analog keine IgM-Ak gegen eines der untersuchten respiratorischen Viren RSV, Adeno oder PIV 1-3 nachgewiesen werden.

Schlüsselt man die Anzahl der Patienten bezüglich der beiden Untersuchungsjahre auf, so ergibt sich die in Tabelle 3 wiedergegebene Verteilung.

IgM- Ak-Nachweise 1992	Anzahl	
	absolut	relativ
PIV 1	13	2%
PIV 2	21	4%
PIV 3	15	3%
RSV	45	9%
Adeno	88	17%
mehrfacher Ak-Nachweis	111	22%
ohne virale IgM-Ak	220	43%
gesamt	513	100%

IgM-Ak-Nachweise 1993	Anzahl	
	absolut	relativ
PIV 1	13	3%
PIV 2	19	4%
PIV 3	16	4%
RSV	29	7%
Adeno	87	20%
mehrfacher Ak-Nachweis	41	9%
ohne virale IgM-Ak	228	53%
gesamt	433	100%

Tabelle 3: Ergebnisse der Virusdiagnostik im Studienjahr 1992 und 1993

Im Jahr 1992 wurden insgesamt 513 pädiatrische Patienten auf virale IgM-Ak gegen Viren des Respirationstraktes hin untersucht, 1993 waren es 433 Patienten. Während die Anzahl der PIV 1-3-, RSV- sowie Adeno-IgM-Ak-Nachweise in beiden Untersuchungsjahren prozentual in etwa gleich häufig beobachtet werden konnten, waren 1993 bei deutlich weniger Patienten Mehrfach-IgM-Ak-Nachweise festzustellen. Hingegen stieg 1993 die Zahl der Patienten ohne einen IgM-Ak-Nachweis gegen eines der untersuchten respiratorischen Viren.

#### 4.1.2 Patienten mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen:

In 172 der 946 Serumproben (18%) wurden mehrere IgM-Ak-Nachweise gleichzeitig beobachtet. Hierbei wiesen von den 172 Patienten 128 einen 2-fachen, 37 Patienten einen 3-fachen, 5 Patienten einen 4-fachen und 2 Patienten sogar einen 5-fachen IgM-Ak-Nachweis gegen PIV 1-3, RSV oder Adenovirus auf. Insgesamt wurden so in den 172 Serumproben 397 IgM-Ak-Nachweise festgestellt. Hierbei ergab sich bei 51 Patienten der Nachweis von IgM-Ak gegen PIV 1, bei 77 gegen PIV 2, bei 59 gegen PIV 3, bei 80 gegen RSV und bei 130 gegen Adenovirus. Um das Spektrum der insgesamt 397 IgM-Ak-Nachweise der 172 Mehrfach-IgM-Ak-Seren besser erfassen zu können (siehe gelber Tortenabschnitt aus Abb.11), wurden deren IgM-Ak-Nachweise je Virus den 326 Patienten mit den Einfach-IgM-Ak-Nachweisen jeweils paarweise zugeordnet ( $n_{\text{IgM-Ak-positive Patienten}}=498$  Patienten) (Abb.12).

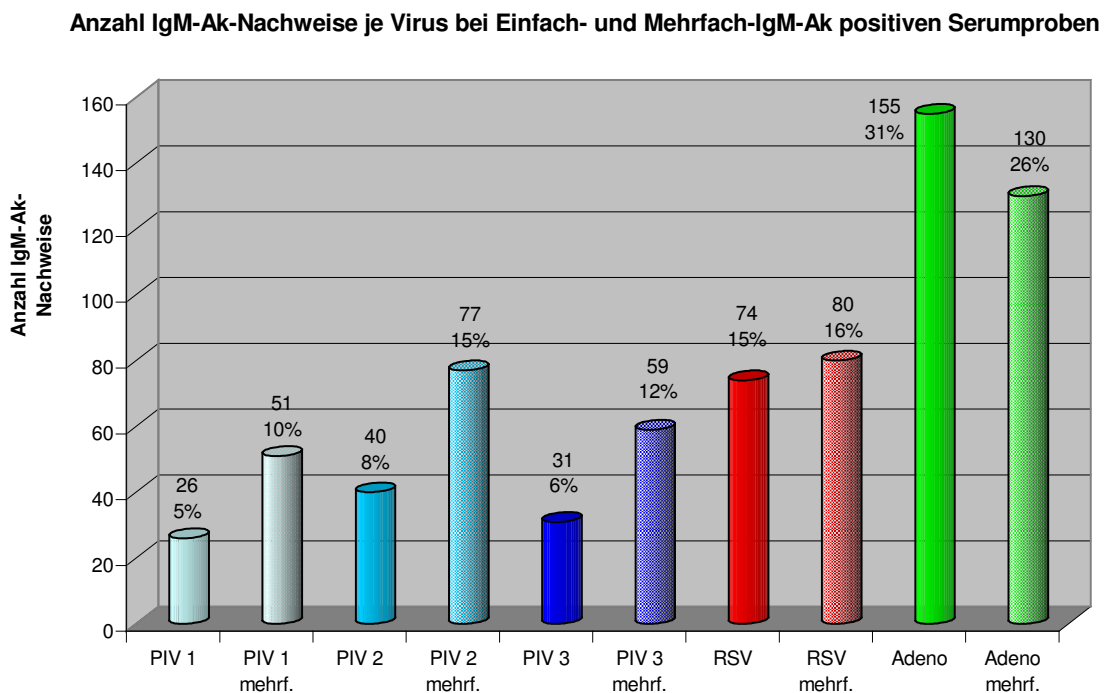


Abb.12: Anzahl der virusspezifischen IgM-Ak-Nachweise bei Patienten mit Einfach-IgM-Ak-Nachweisen,  $n_{\text{einfach}}= 326$  Patienten (Säulenfarbe jeweils komplett) und mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen (Säulenfarbe jeweils kariert),  $n_{\text{mehrfach}}= 172$  Patienten, (Prozentangabe in Bezug auf alle IgM-Ak positive Patienten,  $n_{\text{gesamt}}= 498$  Patienten)

Im Gegensatz zu den 326 Patienten mit den Einfach-IgM-Ak-Nachweisen waren bei den 172 Patienten mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen vor allem PIV 1-3-IgM-Ak (137 Patienten mit 187 PIV 1-3-IgM-Ak-Nachweisen) zu beobachten, gefolgt von Adeno-IgM-Ak (130 Patienten) und RSV-IgM-Ak (80 Patienten). Zum Vergleich fanden sich PIV 1-3-IgM-Ak bei den Patienten mit singulären IgM-Ak-Nachweisen nur bei 29% (97/326), hingegen bei 80% (137/172) der 172 Patienten mit mehrfachen IgM-Ak.

Bei Betrachtung der Gesamtanzahl der 397 Mehrfach-IgM-Ak-Nachweise der 172 Patienten machten die PIV 1-3-IgM-Ak 47% (187/397), Adeno-IgM-Ak 33% (130/397) und RSV-IgM-Ak 20% (80/397) dieser IgM-Ak-Nachweise aus. Hierbei wurden bei den PIV-Serotypen 13% PIV 1-IgM-Ak (51/397), 19% PIV 2-IgM-Ak (77/397) und 15% PIV 3-IgM-Ak (59/397) nachgewiesen.

Betrachtet man die einzelnen Viren hinsichtlich ihres Auftretens als singulärer IgM-Ak-Nachweis oder in Kombination mit anderen viralen IgM-Ak-Nachweisen, so konnten bei 58% (137/234) der Patienten mit PIV 1-3-IgM-Ak parallel weitere virale IgM-Ak beobachtet werden, bei Patienten mit RSV-IgM-Ak waren es 51% (87/171) und bei Patienten mit Adeno-IgM-Ak 43% (149/345). Umgekehrt betrachtet fanden sich somit Adeno-IgM-Ak-Nachweise häufiger singulär als IgM-Ak-Nachweise gegen RSV oder PIV 1-3.

Um der Frage nachzugehen, ob bei den Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen bestimmte IgM-Ak-Kombinationen häufiger auftreten, wurde jede IgM-Ak-Kombination in den Mehrfach-IgM-Ak-Serumproben gezählt und die Anzahl in Tabelle 4 zusammengefaßt. Bei Patienten mit mehr als 2 IgM-Ak-Nachweisen wurde hierbei jede mögliche Kombination einzeln gewertet.

Kombinationen viraler IgM-Ak bei Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen					
	PIV 1	PIV 2	PIV 3	RSV	Adeno
PIV 1 (n=77)		26 (34%)	10 (13%)	10 (13%)	29 (38%)
PIV 2 (n=117)	26 (22%)		18 (15%)	25 (21%)	50 (43%)
PIV 3 (n=90)	10 (11%)	18 (20%)		25 (28%)	39 (43%)
RSV (n=154)	10 (6%)	25 (16%)	25 (16%)		59 (38%)
Adeno (n=285)	29 (10%)	50 (18%)	39 (14%)	59 (21%)	

Tabelle 4: Kombinationen viraler IgM-Ak bei den Patienten mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen (n=Anzahl der Kombinationen je untersuchtes Virus, Prozentangabe in Bezug auf Gesamt-IgM-Ak-Nachweise je Virus)

Die häufigsten Kombinationen sowohl von PIV 1-3-IgM-Ak als auch von RSV-IgM-Ak wurden mit Adeno-IgM-Ak beobachtet (38-43%). Adeno-IgM-Ak hingegen wiesen eine in etwa gleich hohe Rate an Kombinationen mit den IgM-Ak gegen PIV 1-3 sowie gegen RSV auf (10-21%). Weitere häufige Kombinationen wurden von PIV 1- mit PIV 2-IgM-Ak (34%, 26/77) sowie von PIV 3-IgM-Ak mit RSV-IgM-Ak (28%, 25/90) beobachtet. Hingegen ergab sich die niedrigste Kombinationsrate mit nur 6% (10/154) bei RSV-IgM-Ak- in Verbindung mit PIV 1-IgM-Ak-Nachweisen.

#### **4.1.3 Gesamtheit der ermittelten IgM-Ak-Nachweise in der Studienpopulation**

Für die Gesamtheit aller 498 IgM-Ak-positiven Patienten ergaben sich insgesamt 723 virale IgM-Ak-Nachweise, 325 IgM-Ak-Nachweise von den 325 Patienten mit Einfach-IgM-Ak-Nachweisen sowie 398 IgM-Ak-Nachweise bei den 172 Patienten mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen. Betrachtet man die Gesamtheit der IgM-Ak-Nachweise bezogen auf die einzelnen untersuchten Viren, so ergibt sich die in Abb.13 dargestellte Verteilung.

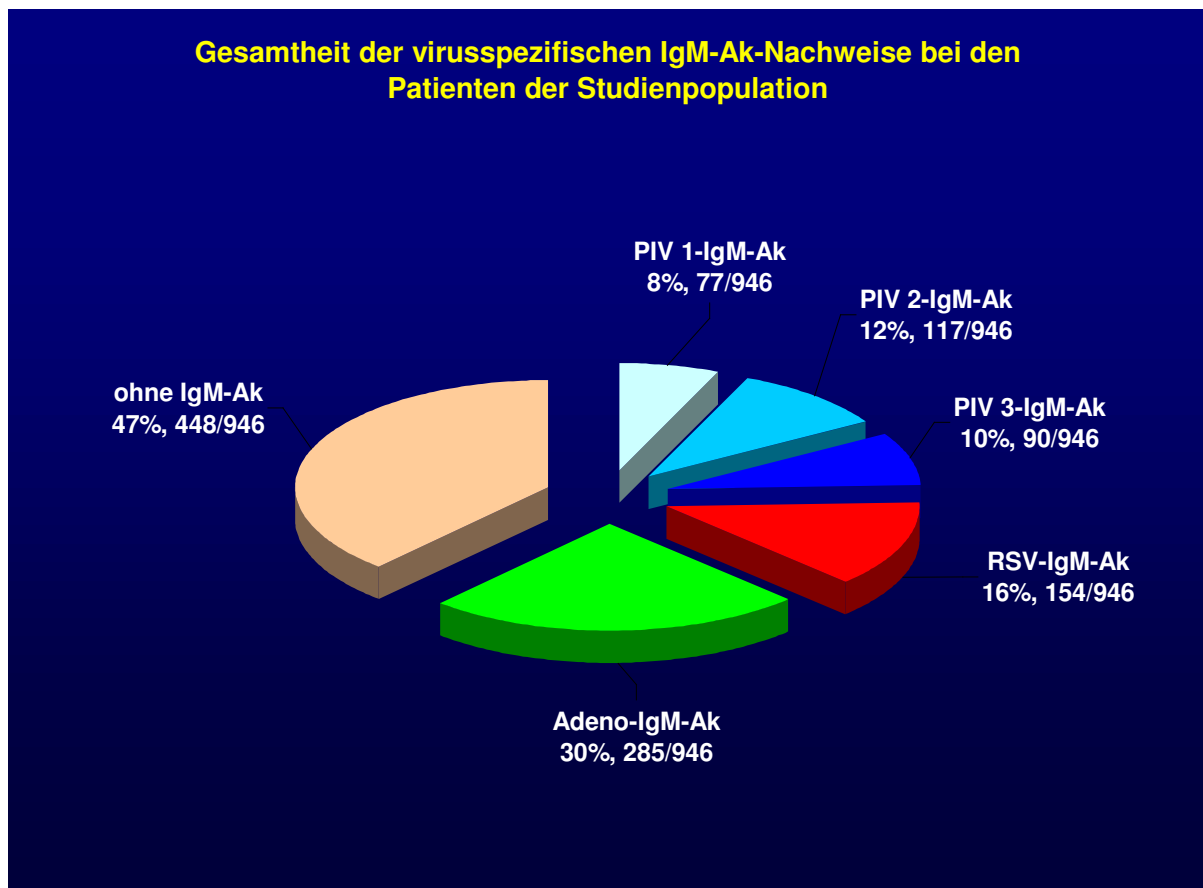


Abb.13: Verteilung der 723 virusspezifischen IgM-Ak-Nachweise (bezogen auf die gesamte Studienpopulation,  $n_{\text{gesamt}}=946$ )

Somit zeigte sich, daß bei 30% aller Patienten (285/946) Adeno-IgM-Ak nachgewiesen werden konnte, gefolgt von 25% der Patienten (234/946) mit Nachweis von PIV 1-3-IgM-Ak. Da bei den Patienten mit PIV 1-3-Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen auch die einzelnen PIV-Serotypen untereinander kombiniert waren, fanden sich bei diesen 234 Patienten insgesamt 284 IgM-Ak-Nachweise gegen eines der PIV Serotypen 1, 2 oder 3. Hierbei waren die einzelnen Serogruppen mit PIV 1 mit 8% (77/946), PIV 2 mit 12% (117/946) und PIV 3 mit 10% (90/946) in etwa gleich häufig vertreten. Bei insgesamt 16% aller untersuchter Patienten (154/946) konnte RSV-IgM-Ak nachgewiesen werden.

#### **4.1.4 Darstellung der viralen IgM-Ak-Nachweise in Abhängigkeit des Alters**

Das Durchschnittsalter der 498 positiven Patienten, die einen oder mehrere virale IgM-Ak-Titer aufwiesen, betrug insgesamt 5,4 Jahre (0-29 Jahre). Hierbei bewegte sich das

Durchschnittsalter der Patienten mit spezifischen viralen IgM-Ak-Nachweisen zwischen 3,9 und 7,2 Jahre. So betrug der Altersdurchschnitt bei Patienten mit RSV-IgM-Ak 3,9 Jahre (0-29 Jahre), mit Adeno-IgM-Ak 5,3 Jahre (0-24 Jahre), mit PIV 1-IgM-Ak 7,2 Jahre (0-23 Jahre), mit PIV 2-IgM-Ak 5,5 Jahre (0-20 Jahre) und mit PIV 3-IgM-Ak 6,2 Jahre (0-24 Jahre). Diese Werte unterlagen jedoch einer gewissen statistischen Verzerrung, da das Durchschnittsalter durch Extremwerte der zum Teil über 20 Jahre alten Patienten angehoben wurde. Betrachtete man aus diesem Grund das Medianalter der IgM-Ak-positiven Patienten, so ergab sich für Patienten mit PIV 1-IgM-Ak ein Median von 5 Jahren, mit PIV 2-IgM-Ak von 4 Jahren, mit PIV 3-IgM-Ak von 4 Jahren, mit RSV-IgM-Ak von 1,5 Jahren und mit Adeno-IgM-Ak von 4 Jahren.

Von allen RSV-IgM-Ak positiven Patienten waren 62% (95/154)  $\leq 2$  Jahre alt, über die Hälfte der Patienten mit RSV-IgM-Ak-Nachweis (51%, 79/154) sogar  $\leq 1$  Jahr alt. Von den Patienten mit Adeno-, PIV 2- oder PIV 3-IgM-Ak-Nachweis waren 29-33%  $\leq 2$  Jahre alt (PIV 2:29%, 34/117, Adeno:30%, 86/285, PIV3:33%, 30/90). Die geringste Anzahl an positiven Patienten, die  $\leq 2$  Jahre alt waren, war bei den IgM-Ak-Nachweisen von PIV 1 festzustellen. Hier lag der Anteil bei nur 10% (8/77).

Eine altersbezogene Verteilung der IgM-Ak-Nachweise gibt Tabelle 5 sowie Abb.14 wieder.

Alter	Anzahl Patienten	Anzahl mit pos. IgM-Ak	PIV 1	PIV 2	PIV 3	RSV	Adeno
0-12 Monate	201	87 (43%)	2 (1%)	14 (7%)	15 (7%)	43 (21%)	29 (14%)
13-24 Monate	166	85 (51%)	4 (2%)	17 (10%)	5 (3%)	36 (22%)	42 (25%)
25-36 Monate	65	33 (51%)	2 (3%)	3 (5%)	10 (15%)	16 (25%)	15 (23%)
4. Lebensjahr	66	37 (56%)	6 (9%)	7 (11%)	5 (8%)	9 (14%)	19 (29%)
5. Lebensjahr	90	63 (70%)	12 (13%)	22 (24%)	8 (9%)	7 (8%)	53 (59%)
6. Lebensjahr	61	34 (56%)	10 (16%)	12 (20%)	9 (15%)	6 (10%)	23 (38%)
$\geq 7$ . Lebensjahr	297	159 (54%)	41 (14%)	42 (14%)	38 (13%)	37 (12%)	104 (35%)
Gesamt	946	498	77	117	90	154	285

Tabelle 5: Altersabhängige Verteilung aller IgM-Ak-Nachweise bei der Studienpopulation (Tabellenangaben in absoluten Patientenzahlen, in Klammern Prozentangaben in Bezug auf die Gesamtzahl der Patienten in der jeweiligen Altersgruppe)

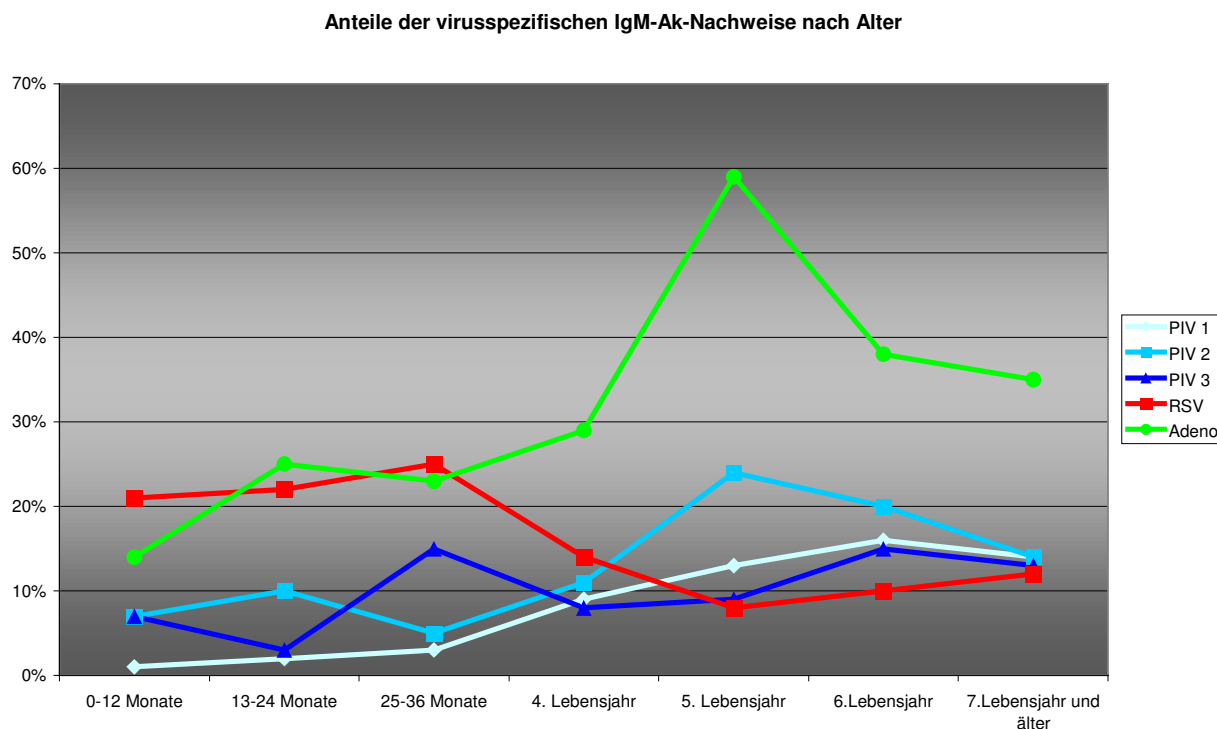


Abb.14: Anteil der virusspezifischen IgM-Ak-positiven Patienten nach Alter

Von den 201 Patienten, die sich im 1. Lebensjahr (0-12 Monate) befanden, bestanden bei 84 Patienten (43%, 87/201) positive IgM-Ak gegen eines oder mehrere der getesteten Viren. Am häufigsten konnten IgM-Ak gegen RSV (21%, 43/201) nachgewiesen werden. Eine Adenovirusinfektion (14%, 29/201) wie auch eine Infektion mit einem der PIV-Serotypen (14%, 29/201) wurde durch positive IgM-Ak bei je 29 Patienten nachgewiesen. PIV 3-IgM-Ak fanden sich hierbei bei 15 Patienten (7%, 15/201), PIV 2-IgM-Ak bei 14 (7%, 14/201) und letztlich PIV 1-IgM-Ak bei nur 2 (1%, 2/201) der im 1. Lebensjahr befindlichen Patienten.

Im 2. Lebensjahr (13-24 Monate) überwogen bei den 85 von 166 positiv-getesteten dieses Alters (51%, 85/166) die Anzahl der Adeno-IgM-Ak-Nachweise (25%, 42/166), die nun knapp die Hälfte aller IgM-Ak-positiv getesteten Patienten (49%, 42/85) ausmachten, gefolgt von 36 Patienten mit positivem RSV-IgM-Ak-Nachweis (22%, 36/166). PIV 1-3-IgM-Ak waren in dieser Altersgruppe bei insgesamt 14% (24/166) der Patienten zu finden. Von den einzelnen Serogruppen waren hierbei PIV 2-IgM-Ak bei 10% (17/166), PIV 3-IgM-Ak bei 3% (5/166) und letztlich wiederum PIV 1-IgM-Ak bei nur 2% (4/166) der 1-jährigen vertreten.



Von 65 Patienten, die sich im 3. Lebensjahr (25-36 Monate) befanden, wiesen 33 einen positiven viralen IgM-Ak-Nachweis auf (51%, 33/65). 16 dieser 37 positiven Patienten (25%, 16/65) besaßen RSV-, 15 Patienten (23%, 15/65) Adeno- und 13 Patienten PIV 1-3-IgM-Ak (20%, 13/65). 10 Patienten wiesen hierbei IgM-Ak gegen PIV 3 (15%, 10/65) auf, 3 Patienten IgM-Ak gegen PIV 2 und wiederum die wenigsten mit nur 2 Patienten gegen PIV 1 (3%, 2/65) auf.

Zusammenfassend konnten somit in den ersten 3 Lebensjahren (Alter: 0-36 Monate) bei 47% der Patienten (205/432) IgM-Ak gegen mindestens eines der untersuchten Viren des Respirationstraktes nachgewiesen werden. Hierbei war die Anzahl der Patienten, die RSV-IgM-Ak aufwiesen mit 95 am höchsten (22%, 95/432), gefolgt von 86 Patienten mit Adeno-IgM-Ak (20%, 86/432) sowie 66 Patienten (15%, 66/432) mit PIV 1-3-IgM-Ak, wobei PIV 1 in dieser Altersgruppe mit 2% (8/432) am seltensten vertreten war. PIV 2-IgM-Ak konnten bei 8% (34/432), PIV 3-IgM-Ak bei 7% (30/432) nachgewiesen werden.

Von den 514 Patienten ab dem 4. Lebensjahr konnten bei 293 Patienten (57%) IgM-Ak gegen mindestens eines der respiratorischen Viren nachgewiesen werden. Bei  $\frac{2}{3}$  der positiv getesteten Patienten bestanden Adeno-IgM-Ak (68%, 199/293), gefolgt von Patienten mit PIV 1-3-IgM-Ak-Nachweisen, die bei knapp über die Hälfte der positiven Patienten (57%, 168/293) zu finden waren. Hierbei waren bei den PIV-Serotypen mit 83 Nachweisen am häufigsten IgM-Ak gegen PIV 2 zu finden (28%, 83/293), gefolgt von 69 IgM-Ak-Nachweisen gegen PIV 1 (24%, 69/293) sowie 60 gegen PIV 3 (20%, 60/293). RSV-IgM-Ak konnten bei den über 3-jährigen nur noch bei 59 Patienten gefunden werden (20%, 59/293).

Die höchste virale IgM-Ak-Nachweisrate ergab sich mit 70% (63/90) bei den Patienten im 5. Lebensjahr (Alter: 4 Jahre), die niedrigste virale Nachweisrate zeigte sich mit 43% (87/201) bei den Kinder im 1. Lebensjahr (Alter: 0-12 Monate).

#### **4.1.5 Ergebnisse des indirekten IFT bei den einzelnen Diagnosegruppen**

Bei den 946 Patienten der Studienpopulation führten unterschiedliche Symptome und Befunde zur virologischen Diagnostik. In Kapitel 3.1.1 wurden die Patienten anhand ihrer Symptomatik in 6 verschiedene Diagnosegruppen eingeteilt (Abb.8). Um nun die Beteiligung der Viren in Bezug auf die einzelnen Diagnosegruppen zu analysieren, werden in der folgenden Abbildung (Abb.15) die Ergebnisse der Virusdiagnostik den Patienten der einzelnen Diagnosegruppen zugeordnet.

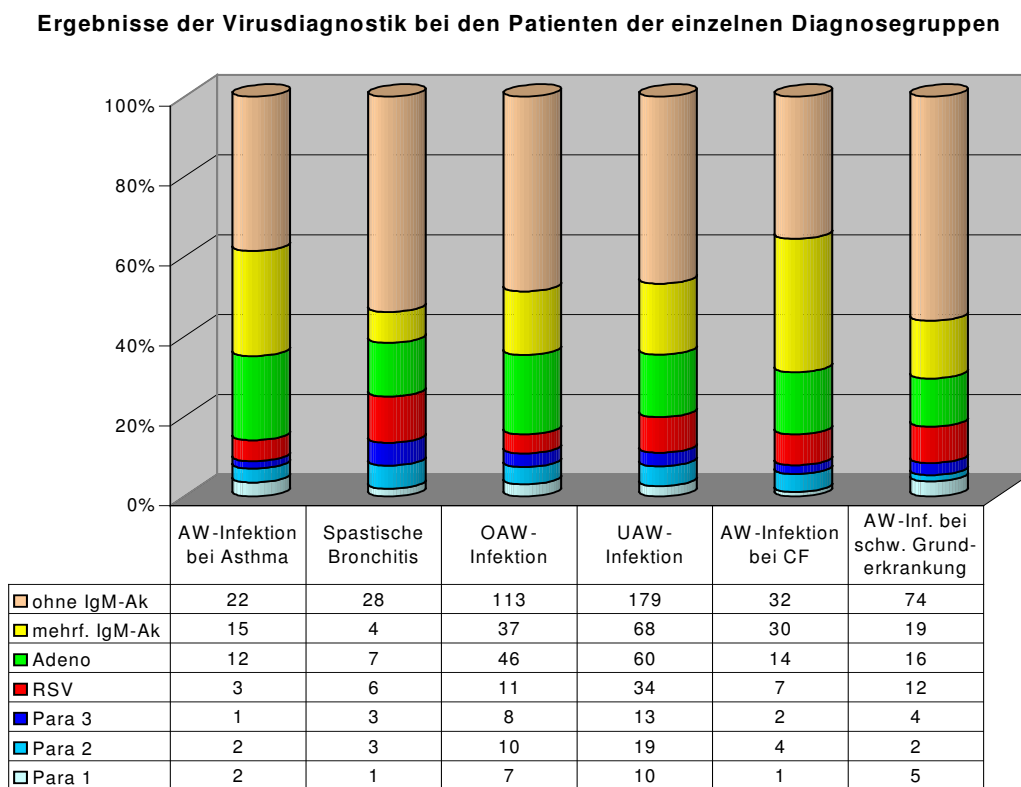


Abb.15: Ergebnisse der Virusdiagnostik bei den Patienten der einzelnen Diagnosegruppen (Tabellenangaben: Anzahl der Patienten; Säulendiagramm: Prozentuale Relation zur Gesamtanzahl der Patienten in der jeweiligen Diagnosegruppe)

##### **4.1.5.1 Häufigkeit der IgM-Ak-Nachweise in den einzelnen Diagnosegruppen**

Der Nachweis einer akuten Virusinfektion konnte in den einzelnen Diagnosegruppen bei 44% bis 64% der pädiatrischen Patienten geführt werden, wobei der Gesamtdurchschnitt der positiven IgM-Ak-Nachweise bei 53% lag (498/946).

Die Kinder mit der niedrigsten viralen IgM-Ak-Nachweisrate von 44% (58/132) bildeten die Patienten mit AW-Infektion bei gleichzeitig zugrundeliegender schwerer Allgemeinerkrankung. Bei 46% (24/52) der Patienten mit Spastischer Bronchitis konnten positive IgM-Ak nachgewiesen werden. Bei den Patienten mit OAW- sowie UAW-Infektion wurden ähnliche virale Infektionsraten von 51% (119/232) bzw. 53% (204/383) beobachtet. Am häufigsten konnten akute Virusinfektionen bei den Patienten mit Cystischer Fibrose (CF) oder Asthma bronchiale nachgewiesen werden. Bei der CF wurden bei fast  $\frac{2}{3}$  (64%, 58/90) der Patienten IgM-Ak gegen die untersuchten Viren ermittelt, beim Asthma bronchiale ergab sich eine Nachweisrate von 61% (35/57). Somit zeigte sich vor allem bei den chronischen Atemwegserkrankungen mit Hyperreagibilität oder struktureller Veränderung der Lunge eine hohe IgM-Ak-Nachweisrate gegen RSV, Adeno oder PIV 1-3.

#### **4.1.5.2 Virusspezifische IgM-Ak-Nachweise in den einzelnen Diagnosegruppen**

##### **Patienten mit nur einem IgM-Ak-Nachweis:**

In jeder Diagnosegruppe konnten jeweils alle 5 untersuchten viralen IgM-Ak als singulärer IgM-Ak-Nachweis nachgewiesen werden.

In allen Diagnosegruppen waren hierbei Adeno-IgM-Ak bei den Patienten mit nur einem IgM-Ak-Nachweis am häufigsten zu finden. So waren sie bei 21% (12/52) der Patienten mit einer akuten AW-Infektion bei Asthma bronchiale sowie bei 20% (46/232) der Patienten mit OAW-Infektionen nachweisbar. Bei Patienten mit einer akuten AW-Infektion, bei CF sowie bei Patienten mit einer UAW-Infektion fanden sich bei je 16% isoliert IgM-Ak gegen Adeno (CF:14/90, UAW-Infektion:60/383). Niedrigere Adeno-IgM-Ak-Nachweisraten zeigten sich mit 16% (14/90) bei Patienten mit AW-Infektionen auf dem Boden einer CF, mit 13% (7/52) bei denen mit einer spastischen Bronchitis und mit 12% (16/132) bei denen mit begleitender schwerer Allgemeinerkrankung.

RSV-IgM-Ak-Nachweise konnten isoliert bei 5-12% der Patienten der einzelnen Diagnosegruppen ermittelt werden. Mit 12% (6/52) konnten RSV-IgM-Ak am

häufigsten bei der spastischen Bronchitis nachgewiesen werden. In dieser Gruppe konnte so bei ¼ (25%, 6/24) der positiv getesteten Patienten isoliert nur RSV-IgM-Ak nachgewiesen werden. Bei den Diagnosen UAW-Infektion, AW-Infektion bei CF sowie bei schwerer Grunderkrankung wurde eine Nachweisrate von 8-9% an RSV-IgM-Ak ermittelt (UAW-Infektion: 9%, 34/383, AW-Infektion bei CF: 8%, 7/90, AW-Infektion bei schwerer Grunderkrankung: 9% 12/132). Die niedrigste Nachweisrate von isolierten RSV-IgM-Ak fand sich mit je 3% bei den OAW-Infektionen (11/232) sowie bei den Patienten mit AW-Infektion bei Asthma bronchiale (3/57).

Die PIV Serotypen 1-3 waren als singuläre IgM-Ak-Nachweise bei allen Diagnosegruppen zu finden, die Nachweisrate betrug hierbei 8-13%. Die höchsten Nachweisraten von PIV 1-3-IgM-Ak ergaben sich hierbei mit 13% (7/52) bei Kindern mit spastischer Bronchitis, die niedrigsten mit jeweils 8% bei den Patienten mit AW-Infektion bei CF (7/90) sowie mit schwerer Grunderkrankung (11/132). Bei 9% der Kinder mit AW-Infektion bei Asthma bronchiale (5/57) sowie bei je 11% der Patienten mit OAW- bzw. UAW-Infektion konnten isoliert eines der PIV-Serotypen nachgewiesen werden.

### **Patienten mit 2 oder mehr positiven IgM-Ak-Nachweisen:**

Eine nicht unerhebliche Zahl an Patienten aller Diagnosegruppen (8-33%) wiesen mehrfache IgM-Ak in ihren Serumproben auf. Dies betraf vor allem Patienten mit Asthma bronchiale und CF, bei denen in 26% (15/57) bzw. in 33% (30/90) der Serumproben mehrere virale IgM-Ak gleichzeitig gegen Viren des Respirationstraktes nachgewiesen werden konnten. Bei Patienten mit OAW- bzw. UAW-Infektion sowie AW-Infektion bei schwerer Grunderkrankung konnten bei 14-16% mehrfache IgM-Ak gefunden werden (OAW-Infektion: 16%, 37/232, UAW-Infektion: 18%, 68/383, AW-Infektion bei schwerer Grunderkrankung: 14%, 19/132). Die niedrigste Nachweisrate an Mehrfach-IgM-Ak ergab sich mit 8% (4/52) bei den Patienten mit spastischer Bronchitis.

## Gesamtheit der IgM-Ak-Nachweise:

Im weiteren wurde untersucht, wie häufig die virusspezifischen IgM-Ak insgesamt bei den einzelnen Diagnosen nachzuweisen waren, unabhängig von einem einzelnen oder mehrfachen IgM-Ak-Nachweis in der Serumprobe (Abb.16). Hierbei wurde jeder IgM-Ak-Nachweis je Virus gewertet.

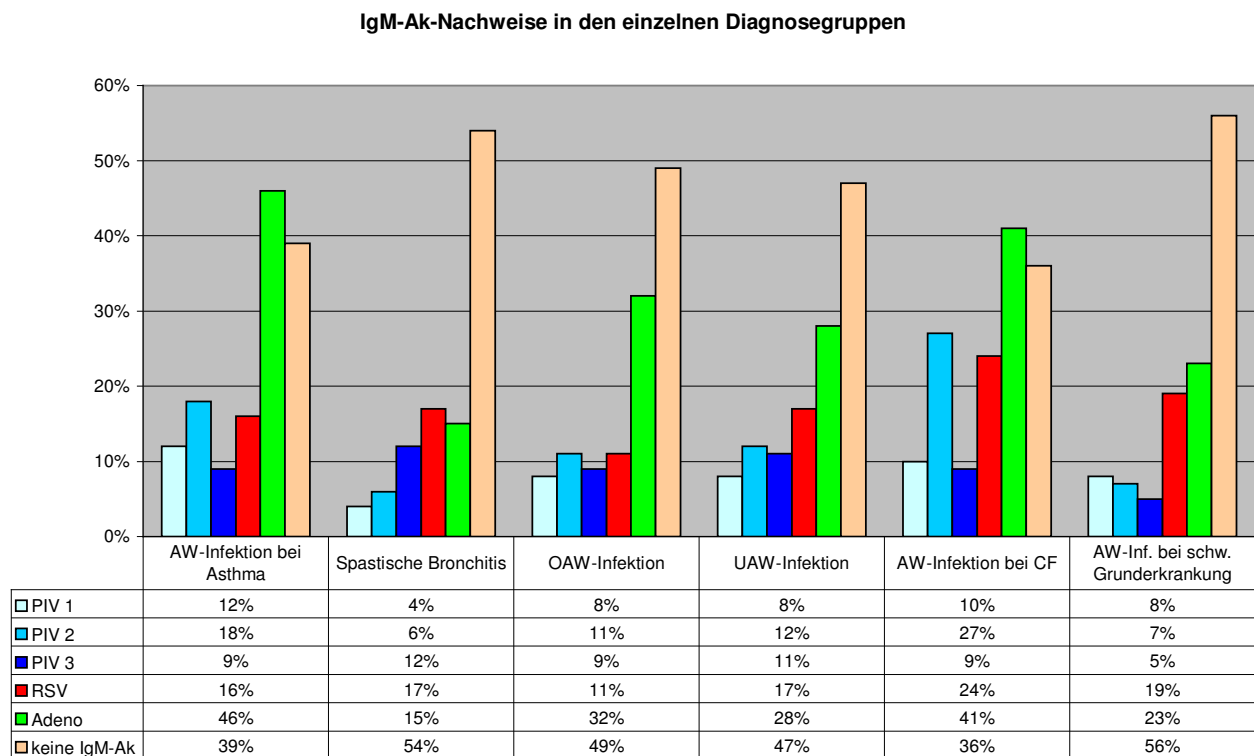


Abb.16: IgM-Ak-Nachweise pro Diagnosegruppe (die prozentualen Angaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl der Patienten pro Diagnosegruppe)

Patienten mit akuten Adenovirusinfektionen konnten generell bei allen Diagnosegruppen mit Ausnahme der Patienten mit spastischer Bronchitis am häufigsten beobachtet werden. Hierbei ergaben sich wiederum die meisten Adeno-IgM-Ak-Nachweise mit 46% (26/57) bei der Diagnosegruppe AW-Infektion bei Asthma bzw. mit 41% (37/90) bei der AW-Infektion bei CF. Patienten mit OAW-Infektion wiesen mit 32% (74/232) vergleichbare Werte mit denen mit UAW-Infektion auf (28%, 109/383). Bei den Patienten mit AW-Infektion bei schwerer Grunderkrankung waren entsprechend ihrer IgM-Ak-Nachweise 23% (31/132) mit Adenoviren infiziert. Die niedrigste Adeno-IgM-Ak-Nachweisrate ergab sich bei den

Patienten mit spastischer Bronchitis. Hier lag Infektionsquote bei lediglich 15% (8/52), wobei dies auch zugleich die einzige Diagnosegruppe darstellte, in der mit 17% (9/52) RSV-Infektionen als häufigste Ursache zu beobachten waren.

Am häufigsten waren RSV-IgM-Ak mit 24% (22/90) bei den Patienten mit Atemwegsinfektion bei CF zu finden. Einen ebenfalls hohen Anteil an Kindern mit positiven RSV-IgM-Ak wiesen mit 19% (25/132) die Patienten mit respiratorischen Infektionen bei begleitender schwerer Allgemeinerkrankung auf, durchschnittliche Werte fanden sich mit 16-17% bei Patienten mit AW-Infektion bei Asthma bronchiale (16%, 9/57), mit spastischer Bronchitis (17%, 9/52) sowie mit UAW-Infektion (17%, 64/383). Die niedrigste RSV-IgM-Ak-Nachweisrate bestand mit nur 11% (25/232) bei den Patienten mit einer OAW-Infektion.

Hohe Infektionsraten mit PIV 1-3 ließen sich vor allem bei Patienten mit akuten AW-Infektionen bei zugrundeliegender CF oder Asthma bronchiale beobachten. So konnten in diesen beiden Diagnosegruppen bei 39% der Patienten mit CF (35/90, insg. 41 PIV 1-3-IgM-Ak Nachweise) und bei 32% Patienten mit Asthma bronchiale (18/57, insg. 22 PIV 1-3-IgM-Ak Nachweise; höhere Angaben der IgM-Ak-Nachweisraten als Patientenzahlen ergaben sich aus Kombinationen von PIV 1-3-IgM-Ak bei Patienten mit mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen) nachgewiesen werden. Bei den Patienten mit OAW- und UAW-Infektionen sowie bei denen mit spastischer Bronchitis fanden sich Infektionsraten mit PIV 1-3 von 21-25% (OAW-Infektion: 23%, 54/232, insg. 66 PIV 1-3-IgM-Ak Nachweise, UAW-Infektion: 25%, 94/383, insg. 188 PIV 1-3-IgM-Ak-Nachweise, spastische Bronchitis: 21%, 11/52, insg. 11 PIV 1-3-IgM-Ak-Nachweise). Die geringste Nachweisrate von PIV 1-3-IgM-Ak wurde mit 17% (22/132, insg. 26 PIV 1-3-IgM-Ak Nachweise) bei den Patienten mit AW-Infektionen bei begleitender schwerer Grunderkrankung beobachtet.

Bei der Betrachtung der einzelnen PIV-Serogruppen fiel vor allem die hohe IgM-Ak-Nachweisrate gegen PIV 2 bei den beiden Diagnosegruppen Atemwegsinfektion bei CF bzw. Asthma auf. Hier bestanden bei 27% (24/90) bzw. bei 18% (10/57) der Patienten PIV-2-IgM-Ak und damit gleichzeitig die mit Abstand am häufigsten IgM-

Ak-Nachweise der PIV-Serogruppen überhaupt. PIV 1-IgM-Ak waren mit 12% (7/57) am häufigsten bei den Patienten mit AW-Infektion bei Asthma bronchiale zu finden, während PIV 3-IgM-Ak mit 12% (6/52) am häufigsten bei den Patienten mit spastischer Bronchitis nachzuweisen waren. Bei den Patienten mit OAW- und UAW-Infektionen bestand mit 8-12% eine relative homogene Nachweisrate der einzelnen PIV-Serotypen (OAW-Infektion: PIV 1: 8%, 19/232, PIV 2: 11%, 36/232, PIV 3: 9%, 21/232, UAW-Infektion: PIV 1: 8%, 30/383, PIV 2: 12%, 45/383, PIV 3: 11%, 43/383), während die niedrigsten Nachweisraten der PIV-Serotypen mit PIV 1 mit 5% bei der spastischen Bronchitis (2/52) sowie mit PIV 3 mit 5% bei den Patienten mit AW-Infektionen bei schwerer Grunderkrankung (7/132).

Bei Betrachtung der einzelnen Diagnosegruppen ergab sich zusammenfassend eine auffallende Gemeinsamkeit bei den Patienten mit Asthma und CF: Bei diesen beiden Gruppen ließen sich anhand des viralen IgM-Ak-Nachweises am häufigsten akute Adenovirus- und PIV 2-Infektionen beobachten. Patienten mit spastischer Bronchitis stellten diejenige Gruppe dar, in denen RSV-IgM-Ak am häufigsten nachzuweisen waren.

#### **4.1.6 Jahreszeitliche Verteilung der viralen IgM-Ak-Nachweise**

Die jahreszeitliche Verteilung der viralen IgM-Ak-Nachweise gegen RSV, Adeno oder PIV 1-3 wurde entsprechend den Abnahmedaten der Serumproben ermittelt (Abb.17).

Jahreszeitliche Häufungen in der Nachweisrate von IgM-Ak gegen Viren des Respirationstraktes fanden sich vor allem um die Wintermonate herum. Während im Sommer 1992 ein Anstieg der Adeno- sowie PIV 2-IgM-Ak-Nachweise zu einer weiteren kleinen epidemiologischen Spitze führten, waren im Sommer 1993 kaum Patienten mit positiven viralen IgM-Ak-Nachweise zu finden.

Jahresverteilung der IgM-Ak-Nachweise

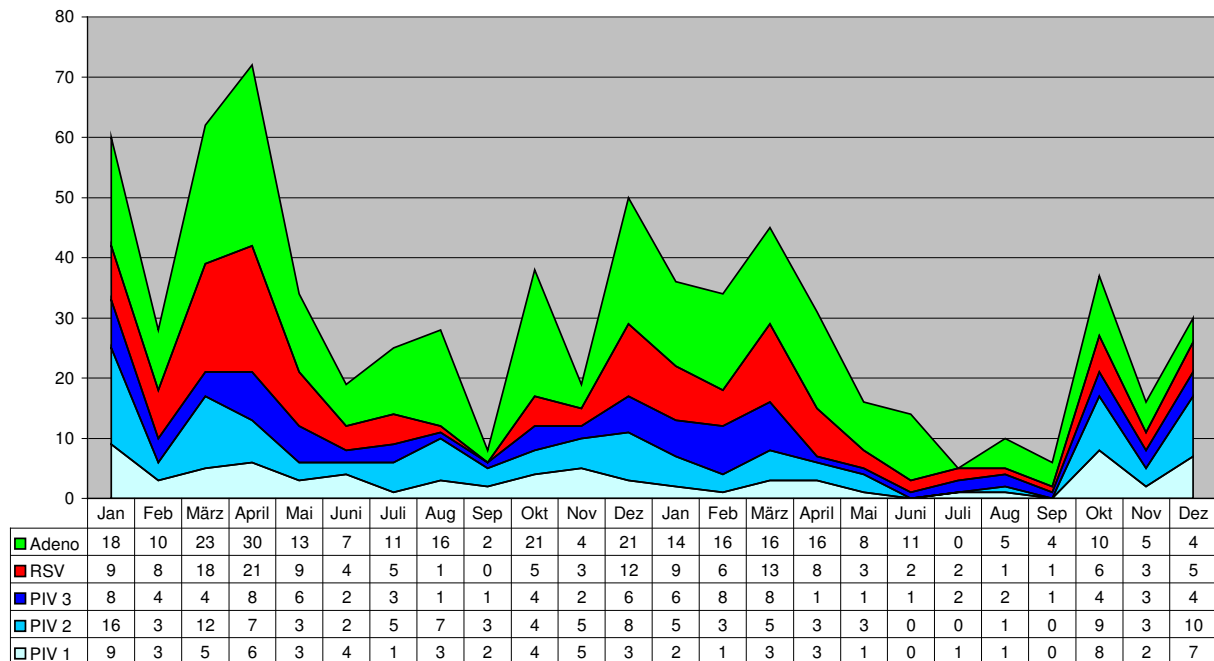


Abb.17: Jahreszeitliche Verteilung der IgM-Ak-Nachweise (Summationstafel; Angaben in Patientenanzahl je viraler IgM-Ak-Nachweis und Monat)

Anhand der Adeno-IgM-Ak-Nachweise kam es vom Winter 1992 bis Frühjahr 1993 mit intermittierenden Adeno-Peaks (Jan92, März/April92, Juli/Aug92, Okt92, Dez92-April93) immer wieder zu Infektionsspitzen, ohne daß eine eindeutige jahreszeitliche Präferenz auszumachen war. Ein ähnliches und zumeist parallel verlaufendes epidemiologisches Muster wies hierbei PIV 2 auf, das ähnliche Spitzen wie Adeno bewirkte und eine eindeutige jahreszeitliche Abhängigkeit missen ließ. Sowohl Adeno als auch PIV 2 konnten im Sommer 1993 kaum nachgewiesen werden, um dann zum Herbst 1993 in ihrer Inzidenz wieder anzusteigen. Hingegen fand sich bei den RSV- wie auch bei den PIV 3-IgM-Ak-Nachweisen ein deutliches epidemisches Auftreten mit einer jahreszeitlich abhängigen Präferenz in den Wintermonaten. PIV 1-IgM-Ak konnten bis auf Juni und September 1993 in allen Monaten des Untersuchungszeitraums nachgewiesen werden und es ergab sich bei diesem Virus allenfalls eine Tendenz zum vermehrten Auftreten in den Herbst- und Wintermonaten.

Zusammenfassend war in jedem Monat des Beobachtungszeitraums der Nachweis von IgM-Ak gegen Adeno, RSV oder eines der PIV möglich.



## **4.2 HCoV 229E**

Bei etwa der Hälfte aller Patienten (47%, 532/1124) gelang in der serologischen Virusdiagnostik kein Nachweis von IgM-Ak gegen eines der Viren des Respirationstraktes Adeno, RSV oder PIV 1-3, obwohl diese Patienten klinische Symptome einer respiratorischen Infektion aufwiesen. Um in dieser Gruppe die Suche nach weiteren möglichen viralen Ursachen vorzunehmen, wurden diese Patienten nun auf IgM-Ak gegen HCoV 229E hin untersucht. Zusätzlich bestimmten wir bei diesen Patienten IgG-Ak gegen HCoV 229E zur epidemiologischen Aufarbeitung der Durchseuchungsrate mit HCoV 229E bei den untersuchten Kindern.

### **4.2.1 Durchseuchungsrate der pädiatrischen Patienten mit HCoV 229E:**

Bei 129 der 370 (35%) untersuchten pädiatrischen Patienten konnten IgG-Ak gegen HCoV 229E nachgewiesen werden. Ordnete man diese 129 positiven Patienten ihren entsprechenden Altersgruppen zu, so resultierte eine mit ansteigendem Alter zunehmende Häufigkeit von IgG-Ak positiven Trägern gegen HCoV-229E (Abb.18).

Die niedrigste IgG-Ak-HCoV 229E-Nachweisrate ergab sich mit 12% (13/107) bei den Kindern im Alter von 7-24 Monaten. Danach stieg die prozentuale Nachweisrate mit zunehmendem Alter kontinuierlich an. So waren in der Gruppe der 2-4 jährigen, dem Alter mit einem möglichen Eintritt des Kindes in den Kindergarten, bereits 32% (29/92) der Kleinkinder positiv, in der Gruppe der 5-7 jährigen, in etwa dem Alter der Einschulung, konnten bei 44% (17/39) IgG-Ak gegen HCoV 229E beobachtet werden, und letztlich ergab sich in der Altersgruppe der 8 jährigen und älter eine Nachweisrate von 72% (56/78), d.h. hier waren fast  $\frac{3}{4}$  der Kinder HCoV 229E-IgG-Ak positiv.

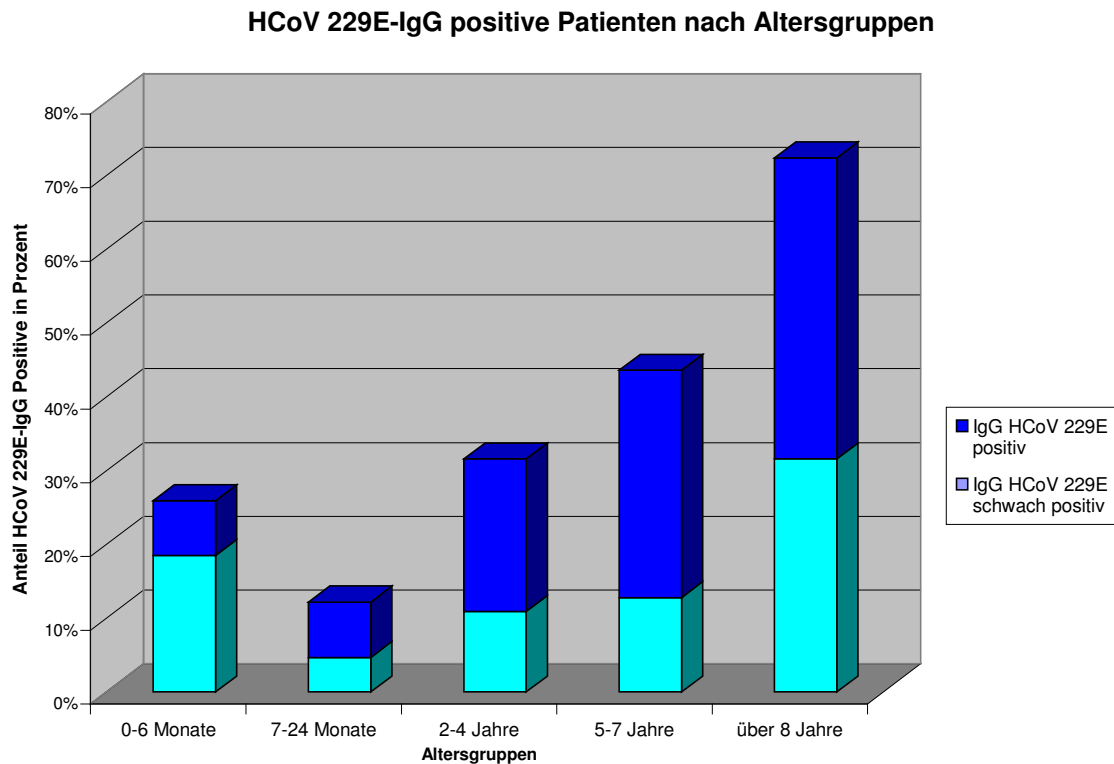


Abb.18: IgG-Ak-Nachweise gegen HCoV 229E in den einzelnen Altersgruppen

Die hohe IgG-Ak-Nachweisrate von 26% (14/54) bei den Neugeborenen und Säuglingen in der Altersgruppe 0-6 Monate ist am wahrscheinlichsten durch maternale IgG-Ak erklärt.

Tabelle 6 gibt einen Überblick über die IgG-Ak-Nachweise gegen HCoV 229E in den einzelnen Altersgruppen bei den Patienten der Untersuchungsjahre 1992 und 1993.

1992	HCoV 229E-IgG-Ak		
	Patienten positiv	Patienten negativ	Prozent positiv
0-6 Monate	8	25	24%
3-24 Monate	6	49	11%
2-4 Jahre	17	36	32%
5-7 Jahre	10	10	50%
über 8 Jahre	31	11	74%
gesamt	72	131	35%

1993	HCoV 229E-IgG-Ak		
	Patienten positiv	Patienten negativ	Prozent positiv
0-6 Monate	6	15	29%
3-24 Monate	7	45	13%
2-4 Jahre	12	27	31%
5-7 Jahre	7	12	37%
über 8 Jahre	25	11	69%
gesamt	57	110	34%

Tabelle 6: Altersbezogene HCoV 229E IgG-Ak-Nachweise im Jahr 1992 und 1993

Im Untersuchungsjahr 1992 konnten bei 35% (72/203) der Patienten IgG-Ak gegen HCoV 229E nachgewiesen werden, 1993 bei 34% (57/167).

Im Vergleich der beiden Untersuchungsjahre bestand generell ein ähnlicher Verlauf im altersabhängigen Anstieg der HCoV 229E IgG-Ak-Nachweise. Eine geringe Abweichung konnte in der Altersgruppe der 5-7 jährigen beobachtet werden. 1992 wiesen hier 50% (10/20) der Kinder IgG-Ak gegen HCoV 229E auf, während es 1993 nur 37% (7/19) waren. Dies ist jedoch nicht signifikant, da in dieser Altersgruppe die Fallzahl zu gering ist. In den anderen Altersgruppen wichen die prozentualen Werte im Jahresvergleich um höchstens 5 Prozentpunkte voneinander ab.

Somit ergab sich insgesamt ein in etwa vergleichbarer Anstieg der Durchseuchungsrate mit HCoV 229E in beiden Untersuchungsjahren.

#### **4.2.2 Patienten mit mehrfachen Serumprobenentnahmen während des Studienzeitraums**

Bei 20 Patienten wurden im Verlauf des Studienzeitraums mehrfach Serumproben zur virologischen Diagnostik abgenommen. Bei 7 dieser Patienten konnten bereits bei Erstabnahme IgG-Ak gegen HCoV 229E nachgewiesen werden, 13 Patienten waren diesbezüglich primär negativ. Bei 3 der 20 Patienten kam es im Beobachtungszeitraum zu einer Änderung des initial festgestellten IgG-Ak-Status gegen HCoV 229E.

##### **4.2.2.1 Serokonversion zu einem positiven HCoV 229E-IgG-Ak-Status**

Bei einem dieser 3 Patienten konnte im Verlauf der Untersuchung eine Serokonversion zu einem positiven IgG-Ak-Nachweis gegen HCoV 229E beobachtet werden. Hierbei handelte es sich um einen 4 Monate alten Säugling, der primär mit einem seit 14 Tagen bestehenden Husten in der Haunerschen Kinderklinik ambulant behandelt wurde, wobei die erste Serumprobe zur virologischen Diagnostik keine IgG- oder IgM-Ak gegen HCoV 229E aufwies. Ein halbes Jahr später erfolgte eine weitere Serumabnahme aufgrund eines eitrigen Schnupfens in Kombination mit der Diagnose

„Zustand nach Knochenmarkstransplantation bei schwerem kombiniertem Immundefizienz-Syndrom“. Hierbei konnten jetzt IgG-Ak gegen HCoV 229E festgestellt werden, jedoch ohne Nachweis von HCoV 229E-IgM-Ak. So kommen bei diesem Patienten entweder eine abgelaufene Infektion mit HCoV 229E in Betracht oder aber auch eine Bluttransfusion mit HCoV 229E-IgG-Ak haltigem Blut im Rahmen der Knochenmarkstransplantation.

#### **4.2.2.2 Serokonversion zu einem negativen HCoV 229E-IgM-Ak-Status**

Bei 2 Patienten konnten umgekehrt in später abgenommenen Serumproben die primär festgestellten HCoV 229E-IgG-Ak nicht mehr nachgewiesen werden. Die IgM-Ak-Bestimmung verlief bei beiden Patienten in jeder Serumprobe jeweils negativ.

Bei einem 4 Monate alten Säugling, der bei Erstabnahme aufgrund einer fieberhaften Infektion IgG-Ak gegen HCoV 229E aufwies, konnten 3 Monate später bei Abnahme aufgrund einer AW-Infektion mit Husten keine IgG-Ak gegen HCoV 229E mehr nachgewiesen werden. Somit war davon auszugehen, daß die initial positiven IgG-Ak maternalen Ursprungs waren. Beim zweiten Fall handelte es um eine 18 jährige Patientin mit CF, bei der in der 2. Serumprobe in einem Abstand von 7 Monaten nach primär positivem HCoV-IgG-Ak-Status keine Ak gegen HCoV 229E mehr nachweisbar waren. Da bei dieser Patientin ebenfalls keine IgM-Ak ermittelt werden konnten, handelte es sich hierbei vermutlich um einen Rückgang der IgG-Ak-Titer nach einer durchgemachter Infektion mit HCoV 229E.

Bei den übrigen 17 Patienten, bei denen im Studienzeitraum mehrfache Serumproben abgenommen wurden, ergaben sich keine Änderungen im primär festgestellten HCoV 229E-IgG-Ak-Status.

### 4.2.3 Patienten mit positivem HCoV 229E-IgM-Ak-Nachweis

Bei 16 (4%) von den 370 untersuchten Patienten konnten IgM-Ak gegen HCoV 229E nachgewiesen werden. Somit bestand bei diesen 16 Patienten der Anhalt für eine akute oder kürzliche Infektion mit HCoV 229E.

#### 4.2.3.1 Jahreszeitliche Verteilung der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten

Einen Überblick über die jahreszeitliche Verteilung der Patienten mit positivem HCoV 229E-Nachweis gibt Abb.19. Die epidemiologischen Daten wurden anhand des Datums der Blutentnahme ermittelt.

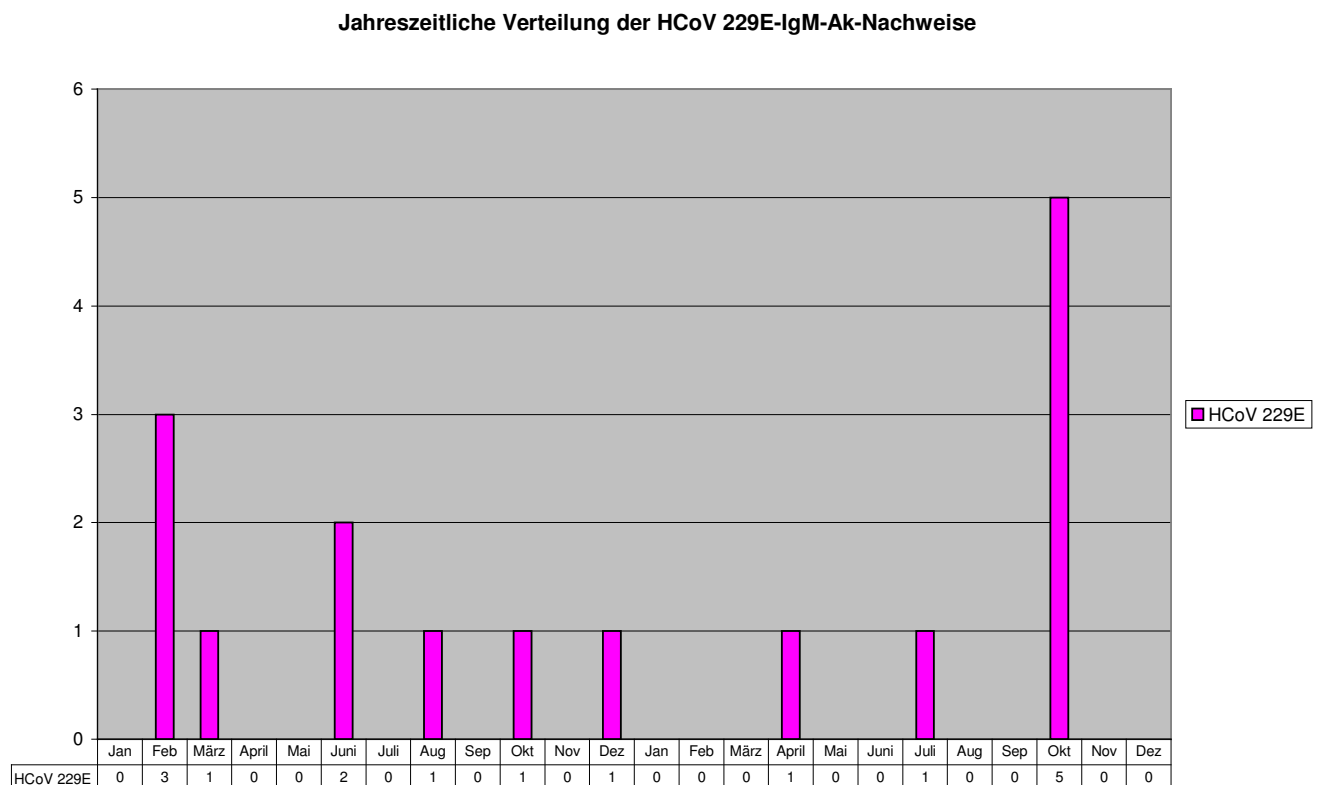


Abb.19: Jahreszeitliche Verteilung der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten (Anzahl Nachweise in Absolutangaben)

1992 waren 9 pädiatrische Patienten HCoV 229E-IgM-Ak positiv, 1993 waren es 7 Patienten. Es konnten 2 jahreszeitliche Häufungen beobachtet werden, zum einen im Frühjahr 1992 mit 4 HCoV 229E-IgM-Ak-Nachweisen im Monat Februar und März, zum anderen im Herbst 1993 mit 5 IgM-Ak-Nachweisen gegen HCoV 229 im Oktober diesen Jahres. Bei den übrigen HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten handelte es sich um sporadisches Auftreten während des Untersuchungszeitraums.

#### **4.2.3.2 Patientendaten und Krankheitsverlauf**

##### **4.2.3.2.1 Patientendaten der HCoV 229E IgM-Ak positiven Patienten**

Die Patientendaten der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten sowie der Befund der IgG-Ak Testung wurden nach dem Alter geordnet in Tabelle 7 dargestellt.

Pat.-Nr.	Alter	Abnahmedatum Serum	Geschlecht	HCoV 229E IgM	HCoV 229E IgG
1	2 Monate	04.02.92	m	pos	pos
2	5 Monate	17.08.92	m	pos	neg
3	5 Monate	27.10.92	m	pos	neg
4	8 Monate	18.04.93	m	pos	neg
5	8 Monate	05.10.93	m	pos	pos
6	1 Jahr	08.03.92	m	pos	neg
7	1 Jahr	12.06.92	m	pos	neg
8	1 Jahr	23.06.92	m	pos	neg
9	1 Jahr	19.10.93	m	pos	neg
10	2 Jahre	15.10.93	w	pos	pos
11	3 Jahre	29.12.92	m	pos	pos
12	4 Jahre	11.02.92	m	pos	neg
13	4 Jahre	24.02.92	m	pos	neg
14	4 Jahre	15.07.93	w	pos	pos
15	8 Jahre	12.10.93	w	pos	pos
16	9 Jahre	26.10.93	m	pos	pos

Tabelle 7: Alters- und Geschlechtsverteilung der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten (nach Alter geordnet)

Das Alter der Patienten reichte von 2 Monaten bis 9 Jahre, wobei das Durchschnittsalter bei 2,4 Jahren und der Median bei 1 Jahr lag. Bei der Geschlechtsverteilung überwiegte mit m:w 13:3 eindeutig das männliche Geschlecht.

Bei 7 von 16 Patienten konnten parallel zu den IgM-Ak auch IgG-Ak gegen HCoV 229E nachgewiesen werden. Der jüngste dieser Patienten war 2 Monate alt und somit in einem Alter, in dem theoretisch noch zirkulierende HCoV 229E-IgG-Ak seiner Mutter vorhanden sein könnten. Ansonsten hatten neben einem 8 Monate alten Patienten noch ein 2, ein 3 und ein 4 Jahre altes Kind sowie die beiden ältesten Kinder mit 8 und 9 Jahren positive HCoV 229E-IgG-Ak. Inwieweit diese IgG-Ak präexistent oder im Rahmen der akuten Infektion aufgetreten waren, kann nicht beurteilt werden. Die übrigen 9 Patienten wiesen negative IgG-Ak gegen HCoV 229E auf.

#### **4.2.3.2.2 Aufnahmeart, stationäre Aufenthaltsdauer sowie Aufnahmediagnosen der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten**

Alle 16 HCoV 229E-IgM-Ak positiven Kinder litten unter einer akuten AW-Infektion.

Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Dauer des ambulanten bzw. stationären Aufenthalts der einzelnen HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten sowie deren Aufnahmediagnose und eventuell vorhandener relevanter Nebendiagnosen.

Pat.-Nr.	Aufenthaltsart	Dauer	Aufnahmediagnose	Besonderheiten
1	stationär	02.02.-17.02.92	Bronchiolitis	
2	ambulant	17.08.92	V.a. Pneumonie	
3	ambulant	27.10.92	V.a. Pneumonie	
4	stationär	seit 21.10.91	Atemwegsinfektion	stationär bei Z.n. KMT 12/92 bei SCID
5	ambulant	05.10.93	V.a. Bronchitis	
6	stationär	08.03.-16.03.92	V.a. Pneumonie	
7	ambulant	12.06.92	Atemwegsinfektion	Asthma bronchiale
8	stationär	23.06.-26.06.92	Atemwegsinfektion	Asthma bronchiale
9	stationär	20.10.-22.10.93	Atemwegsinfektion	Asthma, vert. HIV-Infektion, Hep.C
10	stationär	15.10.-20.10.93	V.a. Pneumonie	
11	ambulant	29.12.92	V.a. Pneumonie	
12	ambulant	11.02.92	OAW-Infektion	
13	stationär	21.02.-24.02.92	OAW-Infektion	
14	stationär	15.07.-22.07.93	V.a. Pneumonie	
15	ambulant	12.10.93	Spastische Bronchitis	prästationär wegen benignem UK-Tu
16	stationär	26.10.-29.10.93	Spastische Bronchitis	

Tabelle 8: Aufenthaltsform und -dauer sowie Aufnahmediagnose der Patienten mit positivem HCoV 229E-IgM-Ak-Nachweis (KMT = Knochenmarktransplantation, SCID = severe combined immunodeficiency syndrome, vert. = vertikal, Hep.C = Hepatitis C, UK-Tu = Unterkiefertumor)

Der Großteil der 16 HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten suchte aufgrund der akuten AW-Infektion die Haunersche Kinderklinik auf. Ein kleiner Teil wurde aber auch aus anderen Gründen in der Klinik bereits stationär bzw. ambulant behandelt und die AW-Infektion trat im Verlauf dieser Behandlung auf.

Abgesehen von Patient Nr.4, der sich seit dem 21.10.91 praktisch ununterbrochen in stationärer Behandlung befand und im Dezember 1992 aufgrund eines schweren kombinierten Immundefekts (SCID) eine Knochenmarkstransplantation erhielt, sowie Patientin Nr.15, die sich aufgrund eines benignen Unterkiefertumors zur präoperativen Abklärung in der Haunerschen Kinderklinik vorstellte und hierbei Symptome einer spastischen Bronchitis aufwies, suchten alle übrigen 14 Patienten aufgrund von Symptomen einer akuten AW-Infektion die Kinderklinik auf. 50% (7/14) dieser Patienten konnten ambulant behandelt werden, 50% (7/14) mußten stationär aufgenommen werden. Hierbei betrug, ausgenommen des einen obengenannten Patienten (Nr.4) mit dem Immundefekt, die stationäre Behandlungsdauer im Durchschnitt 5,75 Tage (2-15 Tage).

Bei den Aufnahmediagnosen wurde bei Patient Nr.1, dem 2 Monate alten Säugling, die Verdachtsdiagnose einer Bronchiolitis, bei Nr. 5, dem 8 Monate alten Kleinkind einer Bronchitis und bei den beiden ältesten Nr.15 und 16 einer spastischen Bronchitis geäußert. Bei den beiden 5 Monate alten Kindern Nr.2 und 3 sowie bei den 1 bis 4 jährigen Kindern (Nr.6, 10, 11 und 14) stellten die behandelnden Ärzte die Verdachtsdiagnose einer Pneumonie. 4 mal wurde die Aufnahmediagnose einer generellen AW-Infektion geäußert (Nr. 4, 7, 8 und 9) und bei den 2 Kindern im Alter von 4 Jahren (Nr.12 und 13) wurde 2 mal die Diagnose einer OAW-Infektion gestellt. Bei den Nebendiagnosen hatten 3 Kinder ein bereits bekanntes Asthma bronchiale (Nr.7, 8 und 9), wobei eines dieser Kinder an einer vertikalen HIV-Infektion sowie Hepatitis C litt (Nr.9).



#### 4.2.3.2.3 Symptome und Befunde der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten

Die Symptome der einzelnen Patienten, die letztlich zur virologischen Diagnostik Anlaß gaben, sind in Tabelle 9 aufgeführt. Unter der Rubrik „Weitere Erreger/Immundefizienz“ werden Befunde genannt, bei denen entweder ein weiterer Erreger (pink eingefärbte Schrift des betreffenden Patienten) oder aber eine begleitende immunschwächende Erkrankung (blau eingefärbte Schrift des betreffenden Patienten) festgestellt wurden bzw. bereits bekannt waren. Die Spalte „asthmoide Zeichen“ beinhaltet asthmatische Symptome bzw. Zeichen, wie zum Beispiel verlängertes Expirium, pfeifende Atmung, auskultatorisches Giemen, Brummen oder Pfeifen. Unter der Rubrik „Positive Auskultation“ wurden die anderweitigen auskultatorischen Befunde wie seitendifferentes oder verschärftes Atemgeräusch wie auch sämtliche Rasselgeräusche subsummiert.

Pat. Nr.	Abnahme- datum	Weitere Erreger / Immundef	Hu- sten	Schnu- pfen	Ra- chen- rötung	Fieber bis 38,5°	Fieber über 38,5°	Dys- pnoe	Asth- moide Zei- chen	Pos. Aus- kult.	Sonstige Symptomatik / Befunde
1	04.02.92		x		x	x			x		
2	17.08.92		x							x	
3	27.10.92		x	x					x		Laryng. Stridor
4	18.04.93	SCID					x	x			red. AZ, Tachyp.
5	05.10.93		x		x	x			x		
6	08.03.92		x		x	x		x		x	
7	12.06.92		x					x	x		
8	23.06.92		x		x	x			x		
9	19.10.93	HIV	x	x	x		x	x	x		TF- Röt. Rechts <sup>3</sup>
10	15.10.93	Mycopl.	x	x	x		x			x	TF- Röt. Rechts <sup>3</sup>
11	29.12.92	Mycopl.	x			x				x	Kopfsz., red. AZ <sup>1</sup>
12	11.02.92	Mycopl.	x	x	x		x				Reduzierter AZ
13	24.02.92		x	x	x				x		
14	15.07.93	Mycopl.	x		x		x			x	
15	12.10.93		x						x		UK-Tumor <sup>2</sup>
16	26.10.93		x					x	x		

Tabelle 9: Symptome und Befunde der HCoV 229E IgM-Ak positiven Patienten  
(blaue Schrift = Patienten mit einer das Immunsystem beeinträchtigenden Erkrankung, pinke Schrift = Patienten mit Mycoplasmen-IgM-Ak-Nachweis, <sup>1</sup> = reduzierter Allgemeinzustand; <sup>2</sup> = Unterkiefertumor; <sup>3</sup> = Trommelfell- Rötung)

Das führende Symptom bei 94% (15/16) aller pädiatrischen Patienten mit positivem HCoV 229E-IgM-Ak-Nachweis war der Husten. Nur bei Patient Nr. 4, bei dem ein angeborener kombinierter Immundefekt bestand, wurde dieses Symptom nicht beschrieben. Als 2. häufigster Befund ergab sich bei 56% der Patienten (9/16) eine asthmoide Symptomatik mit verlängertem Expirium, pfeifender Atmung, Zeichen einer Überblähung der Lunge oder auskultatorischem Giemen, Brummen, Pfeifen. Bei 3 dieser Patienten war ein Asthma bronchiale in der Anamnese bekannt (Nr.7, 8, 9). Bei 6 Patienten bestand diese Symptomatik erstmalig im Rahmen der HCoV 229E-Infektion. Ebenfalls bei 56% (9/16) wurde als Zeichen einer Beteiligung der oberen Atemwege eine Rachenrötung im Sinne einer Pharyngitis festgestellt. Bei 31% (5/16) der Patienten konnte ein „sonstiger positiver Auskultationsbefund“ wie verschärftes Atemgeräusch, abgeschwächtes Atemgeräusch oder Rasselgeräusche der Lunge erhoben werden. Ebenso bestand bei 31% (5/16) der Patienten bei Aufnahme eine Atemnot, bei ebenfalls 31% (5/16) fand sich ein Schnupfen. Bei 63% (10/16) konnte eine erhöhte Körpertemperatur festgestellt werden, bei der einen Hälfte dieser Patienten (5/10) bis 38,5° Celsius, bei der anderen Hälfte (5/10) über 38,5° Celsius. Hierbei war bemerkenswert, daß bei allen 5 Patienten mit Fieber über 38,5° Celsius entweder parallel zur HCoV 229E-Infektion Mycoplasmen-IgM-Ak nachgewiesen werden konnten (3/5) oder aber eine das Immunsystem beeinträchtigende Erkrankung vorlag, wie bei dem Patienten mit dem kombinierten Immundefekt (SCID) (Nr.4) und dem Patienten mit der vertikalen HIV- Infektion (Nr.9).

Betrachtet man nur die HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten (10/16), die keinen weiteren Erregernachweis (Mycoplasmen-IgM-Ak) oder eine Beeinträchtigung des Immunsystems (SCID, HIV) besaßen, so waren 70% (7/10) von diesen  $\leq 1$  Jahr alt und es ergab sich für diese 10 Patienten eine neue prozentuale Verteilung der festgestellten akuten respiratorischen Symptomatik. So konnte bei all diesen Patienten das Symptom Husten (100%) festgestellt werden. Bei 80% (8/10) bestanden asthmoide Zeichen, 50% (5/10) besaßen eine Rachenrötung, 30% (3/10) wiesen eine Dyspnoe und 20% (2/10) einen Schnupfen auf. 40% (4/10) der Kinder hatten erhöhte Körpertemperatur bis 38,5°C, aber kein Patient mit einer isoliert festgestellten HCoV 229E-Infektion wies Fieber über 38,5° Celsius auf. Bei 2 Kindern bestand zusätzlich zu den

asthmoiden Zeichen ein positiver Auskultationsbefund. So konnte bei Patient Nr. 6 ein verschärftes Atemgeräusch beidseits mit vereinzelten Rasselgeräuschen festgestellt werden, bei Patient Nr. 2 bestand ein gering seitendifferentes Atemgeräusch. Bei beiden Kindern wurde letztlich die Entlassungsdiagnose einer viralen Pneumonie gestellt.

#### **4.2.3.2.4 Röntgen Thorax- und Labor-Befunde sowie Entlassungsdiagnosen der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten:**

In Tabelle 10 werden die Röntgen-Thorax-Ergebnisse sowie die Infektionsparameter mit Leukozytenzahl und CRP, die bei Aufnahme bzw. Diagnosestellung der akuten AW-Infektion bei den Patienten bestimmt wurden, aufgeführt. Des weiteren wird die Entlassungsdiagnose der Patienten angegeben.

Die höchsten Leukozytenwerte ergaben sich bei den Patienten, die gleichzeitig zum positiven HCoV 229E-IgM-Ak-Nachweis entweder eine immunbeeinträchtigende Grunderkrankung oder einen positive Mycoplasmen-IgM-Ak-Titer aufwiesen. Hier konnten Werte bis zu 30.600/ $\mu$ l (Nr.14) gemessen werden. Bei den übrigen Patienten fanden sich in der Blutlaboranalyse entweder normale bis gering erhöhte Leukozytenwerte bis zu 12.500/ $\mu$ l mit Ausnahme eines 1 jährigen Patienten (Nr.6), bei dem eine Pneumonie diagnostiziert wurde und hierbei eine Leukozytose von 16.000/ $\mu$ l bestand. Ähnlich verhielt es sich mit den Werten des CRP als Akut-Phase-Protein. Dieses war bei 2 Patienten (Nr.10, 14) mit zusätzlich nachgewiesenen Mycoplasmen-IgM-Ak erhöht mit 3,6 mg/dl (Nr.10) und 11 mg/dl (Nr.14). Aber nicht alle Patienten mit Mycoplasmen-Ak wiesen hohe CRP-Werte auf. So war bei Patient Nr.11 der Wert sogar im Normalbereich (<1,5 mg/dl). Ein CRP-Wert von 2,6 mg/dl ergab sich bei Patient Nr.6, bei dem eine beidseitige Pneumonie diagnostiziert wurde. Der Patient Nr.16 mit der Entlassungsdiagnose Infektasthma wies einen Wert von 2,3 mg/dl auf. Bei den übrigen Patienten konnten CRP-Werte bis maximal 1,7 mg/dl gemessen werden.

Pat. Nr.	Leukozyten [n/μl]	CRP [mg/dl]	Röntgen Thorax Befund	Entlassungs-Diagnose
1	7800	n.d.	Peribronchiale Zeichnungsvermehrung rechts, Überblähung	Bronchiolitis
2	9300	<1,5	Verstärkte perihiläre Zeichnung	Pneumonie
3	10600		Peribronchiale Zeichnungsvermehrung	Bronchopneumonie bds.
4	4800	<1,5	Ohne pathologischen Befund	OAW-Infektion, SCID
5	12500	1,7	Ohne pathologischen Befund	Bronchitis
6	16000	2,6	Perihiläre Verdichtung, Infiltrate Unterfeld beidseits	Pneumonie bds.
7	9400	<1,5	Peribronchiale Zeichnungsvermehrung, Überblähung	Infektasthma
8	n.d.	n.d.	Peribronchiale Zeichnungsvermehrung, massive Überblähung	Spastische Bronchitis, bek. Asthma
9	21700	<1,5	perihiläre diskrete streifige Verdichtung, Überblähung	akute Bronchitis, bek. Asthma, HIV
10	27000	3,6	perihiläre streifig-fleckige Verdichtung	Mycoplasmenpneumonie
11	20200	<1,5	Infiltrate rechts perihilär sowie perihiläre Verdichtung	Mycoplasmenpneumonie
12	7700	1,6	n.d.	OAW-Infekt, Mycoplasmeninfektion
13	10500	1,6	n.d.	Bronchitis
14	30600	11	Peribronchiale Zeichnungsvermehrung basal bds.	Mycoplasmenpneumonie
15	n.d.	n.d.	n.d.	Spastische Bronchitis
16	11900	2,3	Peribronchiale Zeichnungsvermehrung, Überblähung	Infektasthma

Tabelle 10: Labor- und Röntgen Thorax-Befunde sowie Entlassungsdiagnosen der HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten (n.d. = nicht durchgeführt, blaue Schrift = Patienten mit einer das Immunsystem beeinträchtigenden Erkrankung, pinke Schrift = Patienten mit Mycoplasmen-IgM-Ak-Nachweis)

Bei 13 der 16 Patienten wurde ein Röntgen-Thorax-Bild angefertigt. Als Ergebnis zeigte sich bei den meisten Patienten eine peribronchiale oder auch perihiläre Zeichnungsvermehrung. So wurde dieser Befund bei 11 Patienten beschrieben, bei 5 Patienten in Kombination mit einer Überblähung der Lunge. Bei Patient Nr.6, bei dem die Entlassungsdiagnose einer Pneumonie gestellt wurde, fanden sich im Röntgen-Thorax-Bild Infiltrate in beiden Lungen-Unterfeldern. Bei den 3 Patienten mit zusätzlichem Mycoplasmen-IgM-Ak-Befund wurde bei 2 Patienten eine perihiläre

Zeichnungsvermehrung in Kombination mit Infiltraten und bei einem Patienten eine peribronchiale Zeichnungsvermehrung basal beidseits beschrieben.

Bei den Entlassungsdiagnosen wurde bei 3 Patienten (Nr.10, 11, 14) die Diagnose einer Mycoplasmenpneumonie und bei einem die Diagnose einer OAW-Infektion (Nr.12) bei Mycoplasmeninfektion gestellt. Diese Entlassungsdiagnosen gründeten bei diesen Patienten jeweils auf den Nachweis von Mycoplasmen-IgM-Ak. Diese Patienten waren 2-4 Jahre alt, das Geschlechtsverhältnis m:w betrug 1:1. Ambulant konnten 2 dieser Patienten (Nr.10 und Nr.14) behandelt werden, 2 Patienten (Nr.11 und Nr.12) mußten stationär für 5 bzw. 7 Tage aufgenommen werden. Aufgrund der Ergebnisse unserer Untersuchung lag bei diesen Patienten eine Koinfektion mit HCoV 229E vor.

Von den anderen 12 Patienten wurde bei dem Patienten mit SCID (Nr.4) einmal die Entlassungsdiagnose einer OAW-Infektion gestellt. Bei den übrigen 11 Patienten bestanden Symptome bzw. Befunde, die auf eine Infektion der unteren Atemwege hinwiesen. Bei 8 dieser 11 Patienten wurde die Diagnose einer akuten Bronchitis, einer Bronchiolitis, einer spastischen Bronchitis und die eines Infektasthmas gestellt, wobei von 3 dieser Patienten rezidivierende spastische Bronchitiden bzw. die Diagnose eines Asthma bronchiale vorab bekannt waren (Nr.7, 8, 9). Bei weiteren 3 Patienten wurde die Diagnose einer Bronchopneumonie bzw. einer Pneumonie gestellt, wobei diese 3 Patienten  $\leq 1$  Jahr alt waren. Das Geschlechtsverhältnis aller 12 Patienten betrug m:w 11:1, der Altersdurchschnitt lag bei 2,1 Jahren (2 Monate - 9 Jahre).

## **5. Diskussion**

In unserer Untersuchung sollte festgestellt werden, welche Rolle HCoV 229E, RSV, Adenovirus und PIV 1-3 bei akuten Infektionen der Atemwege bei Kindern, die im Haunerschen Kinderspital entweder ambulant oder stationär behandelt wurden, spielen. Ein besonderer Schwerpunkt dieser Studie lag in der Untersuchung der Häufigkeit, Symptomatik und Verlauf von akuten HCoV 229E-Infektionen sowie der Seroprävalenz. Das Testverfahren bestand in der Anwendung eines IFT zur Ermittlung der virus-spezifischen Ak im Serum.

### **5.1 Verwendetes Testverfahren**

Zum Nachweis der Beteiligung von respiratorischen Viren an akuten AW-Infektionen bei Kindern wurde in unserer Untersuchung der serologische Befund entsprechender spezifischer IgM-Ak zugrundegelegt, die über das Verfahren des indirekten IFT ermittelt wurden. Der Nachweis von IgM-Ak gegen Adeno, RSV und PIV 1-3 erfolgte mittels kommerziell erhältlicher Testsysteme. Der Nachweis von IgM- und IgG-Ak gegen HCoV 229E wurde durch einen eigens für die Untersuchung hergestellten indirekten IFT ermittelt. Die Validierung dieses Tests anhand experimentell mit HCoV 229E infizierter Testpersonen wurde von Pohl-Koppe et al. (1995) publiziert.

Bisher wurden noch keine Studien veröffentlicht, bei denen IgM-Ak zum Nachweis einer akuten HCoV-Infektion herangezogen wurden, obwohl dieses Verfahren bei anderen Viren wie Adenovirus, RSV oder PIV erfolgreich in der klinischen Routine eingesetzt wird. Erst seit SARS wird ein IFT zur Detektion von IgM-Ak bei einem CoV durchgeführt. Hierbei wird eine Sensitivität und Spezifität von über 90% erreicht (Fang et al. 2003). Unsere Studie ist die erste Untersuchung in der Pädiatrie, die mittels des IFT auf der Detektion von IgM-Ak zum Nachweis einer Akutinfektion mit HCoV 229E basiert. Dieses Testsystem wurde im Rahmen einer anderen Studie (Pohl-Koppe et al. 1995) im Vergleich mit der Western Blot-Analyse validiert.

Ein serologischer IFT hat den Vorteil, daß über den Nachweis spezifischer Antikörper virale Infektionskrankheiten, die beim Wirt zu einer immunologischen Reaktion geführt haben, festgestellt werden können. Virale Kontaminationen, die bei den Verfahren des direkten Virus- bzw. Genomnachweises als falsch positiv erfaßt werden könnten (Macek et al. 1999), spielen beim serologischen IFT keine Rolle. So können beispielsweise bei der PCR Viren bzw. deren Genom aufgrund von Kontamination auch unabhängig von einer Infektion bei gesunden Probanden nachgewiesen werden (Gern et al. 1997, Nokso-Koivisto et al. 2002). Allerdings hat bei entsprechender Klinik der virale Antigennachweis oder die PCR aufgrund des Infektionsverlaufs den Vorteil, bereits früher als der serologische IFT ein positives Resultat zu zeigen, so daß auch frühe Infektionen bzw. Infektionskrankheiten ohne erfolgte Immunreaktion erfaßt werden. Bei den serologischen Verfahren muß erst eine immunologische Reaktion erfolgen, bevor die Tests positive Ergebnisse zeigen. Aufgrund der bei einer Infektion ablaufenden Ak-Dynamik könnten so falsch-negative Resultate erzielt werden, da ein Anstieg von spezifischen IgM-Ak erst ca. 7 Tage nach Beginn der Inkubation mit dem Virus beobachtet werden (Callow et al. 1990, O'Toole et al. 1989). Da die Inkubationszeit jedoch je nach Virus 2-18 Tage (Waris et al. 1992, Aho et al. 2000) dauert und oft einige Tage vergehen bis die Schwere der Erkrankung zum Aufsuchen eines Krankenhauses führt, ist die Initialphase der nachweisbaren IgM-Ak-Produktion oftmals erreicht. Ein Nachteil des indirekten IFT zur Bestimmung von spezifischen IgM-Ak liegt darin, daß falsch positive Ergebnisse durch polyklonale B-Zell-Stimulierung sowie durch kreuzreaktive Ak möglich sind. Trotzdem gehören serologische Methoden zum Nachweis von spezifischen IgM-Ak zu den üblichen Nachweisverfahren in der Virusdiagnostik. Ein Vergleich der in der Literatur angegebenen Infektionsraten mit Viren des Respirationstraktes ist allerdings immer unter dem Aspekt der angewendeten Testverfahren kritisch zu beurteilen.

## **5.2 Adenovirus, RSV, PIV 1-3**

### **5.2.1 Allgemeine Beteiligung der Viren des Respirationstraktes – PIV 1-3, RSV, Adenovirus – an den akuten AW-Infektionen bei Kindern:**

In unserer Untersuchung konnten bei 498 (53%) von 946 pädiatrischen Patienten IgM-Ak gegen mindestens eines der untersuchten respiratorischen Viren PIV 1-3, RSV oder Adeno nachgewiesen werden.

In bisher veröffentlichten Studien zur Beteiligung von respiratorischen Viren an akuten Atemwegserkrankungen bei hospitalisierten Kindern wurden virale Nachweisraten von 21-62% angegeben (Kim et al. 2000, Lichenstein et al. 2002, Gorbunov et al. 2001, Weigl et al. 2000, Kaiser et al. 1999). Eine unmittelbare Vergleichbarkeit ist mit diesen Studien jedoch nur eingeschränkt möglich, da oftmals neben den in unserer Untersuchung getesteten Viren auch Influenzaviren in die Statistik miteinbezogen wurden. Nach allgemeinen Literaturangaben machen Influenzaviren etwa 15% aller grippe-ähnlichen Atemwegserkrankungen aus (Aho et al. 2000). Glezen et al. (2000), der in den USA mittels des indirekten Immunfluoreszenztests prospektiv Kinder, die aufgrund einer akuten AW-Infektion hospitalisiert wurden, auf Viren, die Erkrankungen des Respirationstraktes verursachen, hin untersuchte, fand mit 62% eine ähnlich hohe positive Nachweisrate wie in unserer Untersuchung. Bei den übrigen Studien bewegte sich die virale Nachweisrate trotz Einbeziehung von Influenzaviren nur zwischen 21% - 37%. Weigl et al. (2000) verwendete bei seiner Untersuchung eine multivalente rt-PCR-Methode. Hierbei konnte er in Deutschland bei hospitalisierten pädiatrischen Patienten mit akuter AW-Infektion bei 42% der unter 5 jährigen und bei 23% der über 5 jährigen eine virale Beteiligung nachweisen. Kaiser et al. (1999) wies in einer Untersuchung unter Anwendung der rt-PCR bei 31% von 1680 Proben hospitalisierter amerikanischer Kinder mit akuter AW-Infektion mindestens ein virales Agens nach. Von Fan et al. (1998) wurde für die rt-PCR eine Sensitivität von 97-100% und eine Spezifität von 95-100% angegeben, so daß diesen Ergebnissen eine hohe Aussagekraft unterstellt werden kann. Im Gegenzug dazu zeigte eine Untersuchung von Gorbunov et al. (2001), der in Moskau eine über 19 Jahre angelegte Untersuchung zur Beteiligung



von Viren des Respirationstraktes bei akuten AW-Infektionen von Kindern durchführte, eine wesentlich niedrigere virale Nachweisrate. Hierbei ergab sich bei nur 21% der hospitalisierten Kinder der Anhalt für eine virusbedingte Infektion mit PIV, RSV, Adeno oder Influenzaviren. Methodisch wurde ein direkter Immunfluoreszenztest angewendet, der jedoch nach Osiowy et al. (1998) nur ca. 75% aller viralen Infektionen nachweisen kann, so daß das Ergebnis von Gorbunov eventuell die tatsächliche virale Beteiligung unterschätzt.

In unserer Untersuchung wie auch in der Studie von Glezen et al. (2000) wurde somit im Gegensatz zu anderen vergleichbaren Studien (s.o.) jeweils eine relativ hohe virale Nachweisrate bei den akuten AW-Infektionen erzielt. Als wahrscheinlichste Erklärung für diese unterschiedlichen viralen Nachweisraten erachten wir die unterschiedlichen Methodiken als verantwortlich. Während in unserer Studie als auch in der von Glezen et al. (2000) der indirekte IFT zum viralen IgM-Ak-Nachweis verwendet wurde, wurden in den anderen Studien direkte Antigen- bzw. Nukleinsäure-Nachweise angewandt. Da der positive Nachweis von IgM-Ak im Serum sowohl für eine akute als auch für eine kürzliche Infektion spricht und zusätzlich die Möglichkeit einer polyklonalen B-Zell-Stimulierung durch eine anderweitige Infektion bzw. der Nachweis kreuzreaktiver IgM-Ak nicht ausgeschlossen werden kann, könnte in unserer Studie als auch in der von Glezen et al. (2000) die Nachweisrate zu hoch sein. Andererseits könnte aber auch beim direkten Virus-Antigen- bzw. Genom-Nachweis eine zu niedrige Nachweisrate bestehen, da hier sowohl die Probenasservierung als auch die Art der Probengewinnung und Zeitpunkt der Probenentnahme zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

Bei Betrachtung der Altersverteilung der Kinder mit viralen Atemwegsinfektionen beschrieb Weigl et al. (2000) bei pädiatrischen Patienten mit Zeichen einer akuten AW-Infektion eine altersabhängige Prävalenz beim Auftreten der einzelnen Viren des Respirationstraktes und fand je nach Alter eine virale Ursache zwischen 23-42%. Auch in unserer Untersuchung stieg die Nachweisrate von viralen IgM-Ak von 43% im 1. Lebensjahr mit zunehmendem Alter stetig an, um dann mit einer 70% Nachweisrate bei den pädiatrischen Patienten im 5. Lebensjahr zu gipfeln. Im weiteren konnten dann

im Schulalter bei 54% der Patienten IgM-Ak gegen Viren des Respirationstraktes nachgewiesen werden. Diese Daten verdeutlichen den Kontakt der Kinder mit der Umwelt sowie vor allem den interpersonellen Kontakt im Kindergartenalter und im Schulalter. Hierbei scheint das 5. Lebensjahr eine besonders intensive Auseinandersetzung mit viralen Erregern darzustellen.

Bei Kindern unter 2 Jahren war vor allem RSV nachzuweisen, zwischen 2-5 Jahren zusätzlich PIV 1 und 3. Adenoviren fanden sich in allen Altersgruppen. Diese altersabhängige Prävalenz bestätigte sich auch in unserer Untersuchung. RSV war die führende Ursache für akute AW-Infektionen bei Patienten im 1. Lebensjahr bzw. der ersten 3 Lebensjahre. Adenoviren und PIV 1-3 fanden sich in allen Altersgruppen, zeigten jedoch mit zunehmendem Alter einen deutlichen Anstieg in ihrer Prävalenz, während RSV ab dem 3. Lebensjahr sich dem Niveau der einzelnen PIV-Serotypen anglich.

Die Altersabhängigkeit der Ergebnisse könnte ein weiterer Grund für die in der Literatur beschriebenen unterschiedlichen viralen Nachweisraten sein, da Studienpopulationen verschiedener Altersverteilung untersucht wurden und somit Einfluß auf die Gesamtergebnisse genommen haben. Weitere Erklärungen für differierende virale Nachweisraten bei akuten respiratorischen Infektionen könnten aber auch durch weitere Faktoren wie der jeweilige Untersuchungszeitraum, die jahreszeitliche Erfassung sowie die geographische Region verursacht sein.

Insgesamt unterstreicht aber die hohe Nachweisrate an viralen IgM-Ak in unserer Untersuchung unter den oben genannten Einschränkungen die Bedeutung von PIV 1-3, RSV und Adeno bei akuten Atemwegsinfektionen bei hospitalisierten Kindern.

#### **5.2.1.1 Beteiligung der Viren des Respirationstraktes an OAW-Infektionen**

Die klassische Verlaufsform einer OAW-Infektion ist die Rhinitis oder die Rhinopharyngitis, die hauptsächlich durch Rhinoviren oder HCoV ausgelöst wird (Mäkelä et al. 1998, Kuljic-Kapulica et al. 1992, Larson et al. 1980, McIntosh et al.

1974, Monto et al. 1974). In der Literatur werden im ambulanten Bereich bei OAW-Infektionen virale Nachweisraten von bis zu 69% genannt (Mäkelä et al. 1998). Diese Erkrankungen verlaufen zumeist milde und selbstlimitierend und stellen eine Domäne des ambulanten Versorgungsbereichs dar. Hospitalisationen bei OAW-Infektionen sind sehr selten, selbst ambulante UAW-Infektionen von Kindern führen nur in etwa 1% zur Hospitalisation (Taussig et al. 1989). Zumeist stellen kompliziert verlaufende OAW-Infektionen, sekundäre Beteiligungen tieferer Atemwege oder Begleiterkrankungen eine Indikation zur Hospitalisation dar. Hierbei verschiebt sich jedoch das Verhältnis der beteiligten Viren meist zu virulenteren Erregern wie PIV 1-3, RSV oder Adenovirus.

In unserer Untersuchung wiesen 232 Patienten eine OAW-Infektion auf. Bei 119 dieser Patienten (51%) ergab sich anhand der festgestellten IgM-Ak der Hinweis für eine virale Ursache. Hierbei konnte bei den meisten Patienten (32%) Adeno-IgM-Ak nachgewiesen werden, gefolgt von 23% Patienten mit PIV 1-3- und 11% mit RSV-IgM-Ak.

#### **5.2.1.2 Beteiligung der Viren des Respirationstraktes an UAW-Infektionen**

In unserer Untersuchung bestand bei 383 pädiatrischen Patienten die Diagnose einer UAW-Infektion. Die spastische Bronchitis wurde hierbei als eine eigenständige Entität gesondert betrachtet, da bei dieser Diagnosegruppe eine asthmatische Komponente hinzutritt, die als möglicherweise prädisponierender Faktor für die Entwicklung eines späteren Asthma bronchiale gilt (Hegele et al. 1995) und hier zusätzlich in der Literatur differente Keimspektren beschrieben werden (Cherian et al. 1990, Maitreyi et al. 2000).

Bei 53% (204/383) der pädiatrischen Patienten mit akuter UAW-Infektion konnten IgM-Ak gegen mindestens eines der untersuchten Viren des Respirationstraktes nachgewiesen werden. Diese Nachweisrate wurde auch von Garcia et al. (2001) beschrieben, der anhand kombinierter Testverfahren mit IFT, Zellkultur und rt-PCR bei 617 hospitalisierten spanischen Kindern, allerdings jünger als 24 Monate alt, mit

den Zeichen einer UAW-Infektion in 56% ein virales Agens nachwies, führend hierbei mit 84% RSV, gefolgt von PIV mit 7% und Adeno mit 4%. Cherian et al. (1990) konnte in Indien bei 328 Kindern, die aufgrund von akuten UAW-Infektionen hospitalisiert wurden, mittels einer Zellkultur oder direktem IFT sogar in 81% der Fälle den Anhalt für einen viralen Erreger finden, wiederum RSV als hauptursächlichen Vertreter. Maitreyi et al. (2000) beschrieb bei hospitalisierten Kindern mit UAW- Infektion unter Einbeziehung der Influenzaviren anhand von Zellkulturen bei 45% der Patienten den Nachweis einer viralen Ursache, wiederum mit 17% führend RSV, gefolgt von Influenza und PIV mit 15% bzw. 12%. Der Adenovirus-Nachweis gelang in nur 2% der Fälle.

Dies steht in deutlichem Gegensatz zu unseren Ergebnissen, in denen Adenovirus-IgM-Ak bei 28% der Patienten nachgewiesen werden konnte, gefolgt von 25% Patienten mit PIV 1-3 sowie 17% mit RSV-IgM-Ak. Diese Tatsache könnte wiederum, wie oben bereits dargelegt, in der Methode des Infektionsnachweises über einmalig bestimmte spezifische IgM-Ak begründet sein. Adenoviren führen zudem zu einer Vielzahl weiterer Infektionserkrankungen außerhalb des Respirationstraktes, so daß es denkbar erscheint, daß auch in Anbetracht der vielen Mehrfach-IgM-Ak-Nachweise bei der Studienpopulation (18%, 172/946) zuvor oder parallel abgelaufene Infektionen mit Adenoviren miterfaßt wurden. Dennoch muß entgegen vieler bisher veröffentlichter Studien, in denen Adenoviren bei hospitalisierten Kindern mit UAW-Infektionen eine eher untergeordnete Rolle spielen (Maitreyi et al. 2000, Garcia et al. 2001, Ahn et al. 1999, Yun et al. 1995), in unserer Untersuchung Adenoviren eine führende Rolle bei UAW-Infektionen zugesprochen werden.

Im Gegensatz zu den Patienten mit UAW-Infektion wiesen Patienten mit spastischer Bronchitis am häufigsten IgM-Ak gegen RSV auf. Dies entspricht durchaus den Angaben der Literatur, in denen RSV als Hauptverursacher von Bronchiolitiden und spastischer Bronchitis genannt werden (Cherian et al. 1990, Maitreyi et al. 2000).

## **5.2.2 Spezielle Beteiligung der einzelnen Viren des Respirationstraktes – PIV 1-3, RSV, Adeno – an den akuten AW-Infektionen bei Kindern**

### **5.2.2.1 Beteiligung von PIV 1-3 an den akuten respiratorischen Infektionen**

In bisher veröffentlichten Studien wurden zur Beteiligung von PIV 1-3 bei akuten AW-Infektionen von hospitalisierten Kindern zum Teil sehr unterschiedliche Angaben gemacht, vor allem in Bezug auf PIV 2, dem früher nur eine geringe klinisch relevante Virulenz zugeschrieben wurde (Chapman et al. 1981, Murphy 1981). Durch neuere Erkenntnisse wandelte sich diese Ansicht in den 90er Jahren. Heute weiß man, daß PIV 1-3 eine der wesentlichen Ursachen von UAW-Infektionen bei Kindern darstellen (Henrickson et al. 2003). In unserer Untersuchung konnten bestätigend PIV 1-3-spezifische IgM-Ak als zweithäufigste Ursache bei 25% der 946 untersuchten Patienten der Studienpopulation und bei 25% der 383 Patienten mit UAW-Infektionen gefunden werden. Diese hohe Nachweisrate an PIV-spezifischen IgM-Ak bei dem von uns untersuchtem Patientenkollektiv wurde bisher in anderen Studien nicht in dieser Häufigkeit beobachtet. So wurden in der Literatur Beteiligungen von PIV an akuten AW-Infektionen bei hospitalisierten Kindern von 6-12% angegeben (Maitreyi et al. 2000, Kim et al. 2000, Garcia et al. 2001). Folglich ist nach unseren Untersuchungsergebnissen neben den Adenoviren auch PIV 1-3 bei hospitalisierten Kindern des Münchner Raums häufiger an akuten AW-Infektionen beteiligt als nach bisherigen Studienergebnissen in anderen Regionen bei Kindern beschrieben wurde. Eine Kreuzreaktion zwischen den einzelnen PIV-Serotypen als Ursache dieser hohen Nachweisrate ist aber möglich.

Bezüglich der einzelnen PIV-Serogruppen 1,2 und 3 waren diese in unserer Untersuchung mit 8%, 12% und 10% der 946 Patienten der Studienpopulation sowie mit 7%, 11% und 11% bei den 435 Patienten mit UAW-Infektionen anhand der IgM-Ak nachweisbar. Laurichesse et al. (1999) beschrieb in seiner Untersuchung über einen 12-Jahres-Zeitraum bei englischen Kindern mit akuten AW-Infektionen als häufigste Serogruppe von 8221 PIV-Nachweisen mit 71% PIV 3, gefolgt von PIV 1 mit 17% und PIV 2 mit 8%. 64% der PIV-positiven Kinder waren hierbei jünger als 1 Jahr alt, 24% zwischen 1 und 4 Jahre alt. Ahn et al. (1999) fand bei hospitalisierten

Kindern mit UAW-Infektionen PIV 1, 2 und 3 bei jeweils 3%, 1% und 3% der Patienten, wobei PIV 1 bevorzugt im 2. Lebensjahr in Erscheinung trat. Ansonsten verursachten PIV 1-3 Infektionserkrankungen in allen Altersgruppen. Bei unserer Studienpopulation des Münchner Raums hingegen wiesen nur 15% der unter 3-jährigen PIV 1-3-IgM-Ak auf, allerdings 33% der über 3 Jährigen. Bei Betrachtung der einzelnen PIV-Serotypen zeigte sich, daß vor allem PIV 1-spezifische IgM-Ak bei Kindern unter 3 Jahren eher selten (2%) nachweisbar waren, PIV 2- sowie PIV 3-IgM-Ak konnten bei 8% bzw. 7% dieser Kinder gesehen werden. Insgesamt bestätigt unsere Untersuchung, daß PIV 1-3 in allen Altersgruppen Infektionserkrankungen der Atemwege verursachen können, wenn sich auch eine Tendenz zu eher älteren Kindern des Münchner Raums abzeichnet.

PIV 1-3 werden nach Angaben der Literatur bei Kindern mit UAW-Infektionen wie z.B. Bronchiolitis oder Pneumonie in Verbindung gebracht und speziell PIV 2 scheint hierbei in der Lage zu sein Bronchiolitiden auszulösen (Laurichesse et al. 1999). In unserer Untersuchung war der Nachweis von PIV 2-spezifischen IgM-Ak im wesentlichen mit Patienten assoziiert, die eine akute AW-Infektion auf dem Boden eines Asthma bronchiale oder einer CF aufwiesen. So war bei diesen Patienten PIV 2 als zweithäufigster IgM-Ak-Nachweis nach Adenovirus zu finden und umgekehrt betrachtet wiesen 25% aller Patienten mit PIV 2-spezifischen IgM-Ak Asthma oder CF auf. PIV 3- IgM-Ak waren vor allem mit spastischer Bronchitis oder mit einer UAW-Infektion assoziiert. Von allen Patienten mit positiven PIV 3-IgM-Ak hatten 48% eine UAW-Infektionen, hingegen nur 38-39% der Patienten mit PIV 1- bzw. 2-spezifischen IgM-Ak Nachweisen. Die häufigsten Nachweise von PIV-1-IgM-Ak fanden sich mit 12% bzw. 10% bei den Patienten mit einer AW-Infektion bei Asthma bronchiale oder CF.

Zusammenfassend unterstreicht unsere Untersuchung die Relevanz von PIV 1-3 bei Kindern mit UAW-Infektionen im hospitalisierten Bereich und zeigt zudem, daß bei Patienten mit Asthma bronchiale oder CF PIV 2 besonders häufig akute AW-Infektion auslösen kann.

### **5.2.2.2 Beteiligung von RSV an den akuten respiratorischen Infektionen**

RSV wird als eine der führenden Ursachen für akute UAW-Infektionen bei hospitalisierten Kindern beschrieben (Weigl et al. 2002, Kim et al. 2000, Garcia et al. 2001, Cherian et al. 1990, Freymuth et al. 1997, Chew et al. 1998). So wurde im Rahmen von Epidemien RSV für 12-45% der pädiatrischen Hospitalisationen bei UAW-Infektionen verantwortlich gemacht (Tsolia et al. 2003, Simoes et al. 2003) und konnte bei 20-30% der ambulant erworbenen Pneumonien nachgewiesen werden (McCracken 2000). Von den hospitalisierten pädiatrischen Patienten mit einer RSV-Infektion der unteren Atemwege benötigten 6-12% intensivmedizinische Betreuung (Berner et al. 2001, Tsolia et al. 2003, Vicente et al. 2003). Bei den RSV-Infektionen besteht eine deutliche altersabhängige Prävalenz (Weigl et al. 2002, Shay et al. 1999, Tsai et al. 2001). Die Hälfte aller Kinder werden im Laufe des 1. Lebensjahres mit RSV infiziert (Welliver 2003). Vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern unter 2 Jahren ergab sich in vielen Studien (De Silva et al. 1986, Chew et al. 1998, Garcia et al. 2001) RSV als Hauptverursacher von akuten AW-Infektionen. Auch Weigl et al. (2002) beschrieb RSV als führende Ursache von akuten AW-Infektionen bei hospitalisierten Kindern im Alter von unter 2 Jahren.

In unserer Untersuchung konnten bei 16% der 946 pädiatrischen Patienten mit Zeichen einer akuten Atemwegsinfektion und bei 17% der 383 Patienten mit UAW-Infektionen RSV-IgM-Ak nachgewiesen werden. Von allen RSV-IgM-Ak positiven Patienten waren 62%  $\leq 2$  Jahre alt, über die Hälfte der Patienten (51%) mit RSV-IgM-Ak-Nachweis sogar  $\leq 1$  Jahr alt. RSV stellte hierbei bei den unter 3-jährigen den führenden IgM-Ak-Nachweis dar und wurde so bei 46% der IgM-Ak-positiven Kinder dieser Altersgruppe festgestellt. So bestätigt auch unsere Studie, daß RSV zu den häufigsten Ursachen akuter Atemwegsinfektionen bei hospitalisierten Kindern unter 3 Jahren zählt. Bei pädiatrischen Patienten ab dem 4. Lebensjahr dominieren hingegen Adenoviren und PIV, hier ist RSV nur noch bei 20% der IgM-Ak-positiven Patienten nachweisbar.

Huang et al. (2001) konnte in Taiwan bei 32% der wegen UAW-Infektionen hospitalisierten pädiatrischen Patienten RSV als führende virale Ursache nachweisen. Dabei handelte es sich in seiner Untersuchung hauptsächlich um Patienten mit Bronchiolitiden. So wird auch in anderen Studien RSV bei Kindern unter 5 Jahren vor allem mit einer Infektion der Bronchien und der Bronchiolen in Verbindung gebracht (El-Sahly et al. 2000, Garcia et al. 2001, Maitryi et al. 2000, Kim 2000, Cherian et al. 1990, Carlsen et al. 1983). Unsere Studie bestätigt, daß RSV bei pädiatrischen Patienten mit spastischer Bronchitis die führende virale Ursache darstellt.

Die höchste Nachweisrate von RSV-IgM-Ak bestand jedoch mit 24% bei den Patienten mit CF. Auch Abman et al. (1988) stellte RSV als wichtige Ursache von AW-Infektionen bei CF-Patienten heraus. In seiner Untersuchung war bei 39% der pädiatrischen Patienten, die aufgrund einer akuten AW-Infektion bei zugrundeliegender CF hospitalisiert wurden, RSV nachweisbar. Von Armstrong et al. (1998) wurde eine Infektionsrate von 23% für RSV bei der CF angegeben. So scheint RSV, bestätigt durch unsere Untersuchung, in besonderem Maße in der Lage zu sein, respiratorische Infektionen bei Patienten mit CF hervorzurufen.

### **5.2.2.3 Beteiligung von Adenoviren an den akuten respiratorischen Infektionen**

Adenoviren werden mit vielen Infektionserkrankungen in Verbindung gebracht, bei Kindern unter 5 Jahren aber vor allem mit akuten AW-Infektionen. Primäre Infektionen mit Adenoviren erfolgen bereits in den ersten Lebensjahren, so daß die meisten Kinder mit 10 Jahren mindestens einmal Kontakt mit Adenoviren hatten (Baum 1995). Die meisten akuten AW-Infektionen verlaufen als milde OAW-Infektion mit möglicherweise begleitender Tracheitis, aber auch fulminante nekrotisierende Bronchitiden oder Pneumonien können durch Adenoviren verursacht werden (Baum 1995, Pichler et al. 2000).

In unserer Untersuchung bildeten Adenoviren anhand ihres IgM-Ak-Nachweises die führende Ursache der akuten AW-Infektionen bei hospitalisierten Kindern. So wurden bei 30% der 946 Patienten mit AW-Infektionen und bei 28% der 383 Patienten mit



UAW-Infektionen Adeno-IgM-Ak nachgewiesen. Diese hohen Nachweisraten liegen zum Teil weit über den Angaben, die in anderen Veröffentlichungen für die Beteiligung von Adenoviren bei akuten AW-Infektionen gemacht wurden. So wurden bei Kindern, die aufgrund von akuten AW-Infektionen hospitalisiert wurden, nur bei 2-15% (2% Maitreyi et al. 2000, 13% Grondahl et al. 1999, 10% Freymuth et al. 1997, 4% Kim et al. 2000, 15% Meqdam et al. 2001) Adenoviren nachgewiesen. Bei den UAW-Infektionen waren es sogar nur 3-4% der hospitalisierten pädiatrischen Patienten (3% Ahn et al. 1999, 4% Garcia et al. 2001, 4% Yun et al. 1995), bei denen Adenoviren nachgewiesen werden konnten. Dies könnte unter Umständen daran liegen, daß in diesen Studien andere Nachweismethoden als in unserer Studie angewendet wurden. Bei allen Untersuchungen erfolgte ein direkter Antigen- bzw. Genomnachweis über nasale oder nasopharyngeale Aspirate mit anschließender direkter Virusisolation oder Nachweis von viralen Antigenen über einen IFT bzw. bei Grondahl et al. (1999) durch den genomischen Nachweis über eine Multiplex-PCR. Adenoviren sind aber neben den typischen AW-Infektionen auch in der Lage extrapulmonale Infektionen zu verursachen (Chuang et al. 2003, Farng et al. 2002), da auch andere Epithelien wie z.B. okkuläre oder gastrointestinale (Edwards et al. 1985) infiziert werden können. Es könnte daher möglich sein, daß in unserer Untersuchung kürzliche oder parallel ablaufende extrapulmonale Infektionen zu einer zu hohen Nachweisrate von Adeno-IgM-Ak in unserer Untersuchung führten.

Es gibt dennoch auch Studienergebnisse, die Adenoviren bei behandlungspflichtigen AW-Infektionen von Kindern häufiger nachweisen. Tsai et al. (2001) fand mittels Viruskultivierung von nasopharyngealen Aspiraten von 6986 Patienten in Taiwan mit einer akuten AW-Infektion bei etwa der doppelten Anzahl der Patienten den Anhalt für eine Adenovirus- als für eine RSV- oder PIV-Infektion. Al-Hajjar et al. (1998) wies ebenfalls mittels der Virusisolation von klinischen Proben in Saudi-Arabien über einen Beobachtungszeitraum von 3 Jahren bei 27% der Kinder, die wegen akuter AW-Infektionen hospitalisiert wurden, Adenoviren nach, nur knapp hinter RSV mit 28,5%. Da aber auch in diesen Studien ein direkter Virusnachweis verwendet wurde, muß die Nachweismethode nicht zwingend die Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse sein. Eventuell bestehen zusätzliche regionale oder saisonale Unterschiede in der

Prävalenz von Adenoviren. Aufgrund unserer Ergebnisse könnte es also sein, daß pädiatrische Patienten des Münchner Raums mit akuter AW-Infektion offensichtlich eine höhere Prävalenz von Adenovirusinfektionen im Sinne einer Epidemie im Untersuchungszeitraum aufwiesen.

In unserer Studie ergab sich eine auffallend hohe Adeno-IgM-Ak-Nachweisrate mit 46% bzw. 41% bei den Patienten mit akuter AW-Infektion bei einer zugrundeliegenden chronischen Atemwegserkrankung wie Asthma bronchiale oder CF. Eine Verbindung von Asthma bronchiale mit gehäuften Nachweisen von Adenoviren zeigte bereits Tan et al. (2003) sowie Marin et al. (2000). So konnte Tan et al. (2003) bei 24% der Patienten mit schwerem Asthma mittels der PCR-Methode von Atemwegsaspiraten bzw. induziertem Sputum Adenovirus-DNA nachweisen. Marin et al. (2000) fand über die gleiche Methode bei 78% der Asthma-Patienten im symptomfreien Intervall Adenovirus-DNA, jedoch bei nur 5% der Personen ohne Asthma.

In Bezug auf die Altersstruktur zeigten Patienten mit Adenovirus-IgM-Ak in unserer Untersuchung, wie auch von Weigl et al. (2000) beschrieben, keine eindeutige Altersprävalenz, wenn auch bereits ab dem 1. Lebensjahr hohe Nachweisraten an Adeno-IgM-Ak vorlagen, um dann mit zunehmendem Alter weiter anzusteigen. So machten Adenoviren im 1. Lebensjahr ca.  $\frac{1}{3}$  aller positiven IgM-Ak-Nachweise aus und konnten bei Patienten ab dem 4. Lebensjahr als führender viraler IgM-Ak-Nachweis gefunden werden. So zeigen Adenoviren wohl eine Präferenz für Kinder ab dem Kindergartenalter.

### **5.2.3 Virale IgM-Ak Nachweise innerhalb einzelner Diagnosegruppen**

Es wurde in der Vergangenheit immer wieder versucht, den einzelnen Viren des Respirationstraktes typische klinische Bilder zuzuordnen (Donati et al. 1998, Kim et al. 1999). Jedoch stellte bereits Freymuth et al. (2001) sowie Lichenstein et al. (2002) fest, daß die klinischen Symptome und Zeichen einer AW-Infektion der verschiedenen Viren des Respirationstraktes sich stark ähneln und eine spezifische klinisch-

virologische Beziehung im Prinzip nicht hergestellt werden kann. Auch Siddell et al. (1995) konstatierte, daß prinzipiell jedes der Viren des Respirationstraktes in der Lage ist das gesamte Spektrum der Klinik einer akuten AW-Infektion hervorzurufen und umgekehrt es somit keine Möglichkeit gibt, von den einzelnen Symptomen auf das auslösende virale Agens zurückzuschließen (Tabelle 2). Diese Beobachtung wird von unseren Untersuchungsergebnissen gestützt, da in jeder der 6 Diagnosegruppen jeweils alle 5 untersuchten respiratorische Viren nachgewiesen werden konnten und somit jedes der untersuchten Viren in der Lage war, sämtliche Manifestationen einer Atemwegserkrankung hervorzurufen.

Um jedoch Unterschiede der einzelnen Viren in der Häufigkeit ihrer klinischen Symptomatik herausarbeiten zu können, müssen einzelne Diagnosegruppen bezüglich der jeweiligen viralen IgM-Ak-Nachweisrate betrachtet werden.

Die höchste Anzahl an Patienten mit positivem IgM-Ak Nachweis gegen mindestens eines der untersuchten Viren des Respirationstraktes fand sich mit 61% bzw. 64% bei der Gruppe mit akuten AW-Infektionen bei gleichzeitig zugrundeliegender chronischer AW-Erkrankung wie Asthma bronchiale oder CF. In der Literatur werden gerade bei Exazerbationen eines Asthma bronchiale aber auch bei akuten AW-Infektionen von Patienten mit CF besonders hohe Nachweisraten an viralen Erregern genannt (Tuffaha et al. 2000, Rohde et al. 2003, Folkerts et al. 1998, Johnston et al. 1995, Nicholson et al. 1993, Wat 2003). Johnston et al. (1995) brachte Asthma-Exazerbationen bei Schulkindern in 80-85% der Fälle mit einer viralen respiratorischen Infektion in Verbindung. Tan et al. (2003) konnte mittels der PCR bei 52% der Patienten mit einer akuten Asthma-Exazerbation virale DNA nachweisen, hingegen nur bei 7% der Patienten mit unauffälliger Asthma-Erkrankung. Bei Patienten mit CF wird der Hauptanteil der pulmonalen Exazerbationen, die zur Hospitalisation führen, durch virale AW-Infektionen verursacht (Hordvik et al. 1989). Armstrong et al. (1998) zeigte, daß bei 52% der Kinder mit CF, die aufgrund respiratorischer Symptome in ein Krankenhaus eingewiesen wurden, eine virale Ursache vorlag. Dies könnte die hohe virale IgM-Ak- Nachweisrate dieser Patientengruppen in unserer Studie erklären.

In unserer Untersuchung ergab sich die geringste virale IgM-Ak-Nachweisrate mit 44% bei den Patienten mit akuter AW-Infektion bei zugrundeliegender schwerer Allgemeinerkrankung. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß gerade bei dieser Patientengruppe, bei denen mit hoher Wahrscheinlichkeit ein geschwächtes Immunsystem vorliegt, auch weniger virulente bzw. untypische Erreger wie Rhinoviren, Enteroviren oder Influenzaviren eine pathogene Rolle spielen können (Mackie 2003, Rabella et al. 1999), und sich das Erregerspektrum diesbezüglich verschiebt. Zudem kommen auch andere Erreger wie Mycoplasmen oder Chlamydien sowie typische bakterielle Erreger wie Streptococcus pneumoniae oder Hämophilus influenza in Frage, die vor allem bei immungeschwächten Kindern eine kausale Rolle in der infektiösen Genese einer akuten respiratorischen Erkrankung übernehmen können. Ein weiteres Argument für die relativ niedrige IgM-Ak-Nachweisrate könnte wiederum in der Testmethode selber liegen, da gerade immunsupprimierte Patienten eventuell keine oder nur verzögert IgM-Ak gegen die Viren des Respirationstraktes bilden und so einem Nachweis entgehen und zu falsch negativen Ergebnissen führen.

#### **5.2.4 Patienten mit mehrfachen viralen IgM-Ak-Nachweisen**

Virale Mehrfachinfektionen sind bei akuten AW-Infektionen von Kindern durchaus nicht unüblich (Waner 1994, Huang et al. 1998). So wurden von Freymuth et al. (1997) bei 18% der Kinder, die wegen akuter AW-Infektionen hospitalisiert wurden, unter Anwendung des direkten IFT, der Virusisolation sowie der PCR virale Mehrfachinfektionen angegeben, wobei  $\frac{1}{4}$  aller RSV-Infektionen von anderen respiratorischen Viren begleitet wurden. Hierbei fanden sich virale Nachweise vor allem in der PCR. Andere epidemiologische Untersuchungen geben Raten von 2-11% an mehrfachen Virusnachweisen bei UAW-Infektionen von Kindern an (4% Maitreyi et al. 2000, 11% Ekalaksananan et al. 2001, 3% Yun et al. 1995, 2% Weigl et al. 2000).

In unserer Untersuchung wiesen 18% (172/946) der Patienten mehrfache IgM-Ak-Nachweise gegen die getesteten viralen Erreger des Respirationstraktes auf. Hierbei wurden bei diesen 172 Patienten insgesamt 398 IgM-Ak-Nachweise beobachtet, wobei

in den einzelnen Serumproben nicht nur duale sondern zum Teil 3-, 4- oder sogar 5-fache IgM-Ak-Nachweise gefunden wurden. Der höchste Anteil an Mehrfach-IgM-Ak-Nachweisen zeigte sich bei Patienten, bei denen PIV 1-3-IgM-Ak vorhanden waren. Von diesen Patienten wiesen 59% mindestens einen weiteren viralen IgM-Ak auf. Bei Patienten mit RSV-IgM-Ak waren es 52% und bei Patienten mit Adeno-IgM-Ak 46%, bei denen weitere IgM-Ak gefunden wurden. Betrachtete man nur die 172 Patienten mit Mehrfach-IgM-Ak-Nachweise bestanden bei 80% PIV 1-3-IgM-Ak, bei 76% Adeno-IgM-Ak und bei 47% RSV-IgM-Ak. Ähnliche Daten fand Huang et al. (1998), der sich speziell der Frage nach viralen Mehrfachinfektionen bei UAW-Infektionen von Kindern zuwandte und hierbei bei 60% der Kinder mit Mehrfachinfektionen Adenoviren feststellte, bei 23% RSV, bei 37% PIV 1 und bei 43% PIV 2.

Bei der Beurteilung von simultanen multiplen Virennachweisen bei Patienten mit akuter AW-Infektion muß das Testverfahren kritisch betrachtet werden. Während bei der PCR bzw. den direkten Virusantigennachweisen auch Kontaminationen miterfaßt werden und so scheinbare virale Mehrfachinfektionen gefunden werden, ist es beim serologischen Nachweis von IgM-Ak möglich, daß eine kürzliche Infektion nachgewiesen wird und so scheinbar Mehrfachinfektion vorliegen. Des weiteren kann es im Rahmen eines Infektes auch zu einer polyklonalen B-Zell-Aktivierung kommen, bei der unspezifische IgM-Ak gebildet werden, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen, wobei hier der Erfahrung nach die Testergebnisse nur sehr schwach positiv ausfallen.

Eine weitere mögliche Ursache für das besonders häufige Auftreten von mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen gerade bei PIV 1-3-IgM-Ak positiven Patienten könnte in einer Kreuzreaktion der verschiedenen Serotypen zu suchen sein. Vor allem für PIV 1 und PIV 3 werden aufgrund der engen Verwandtschaftsbeziehung serologische Kreuzreaktionen beschrieben (Vuorinen et al. 1989, Ray et al. 1990). Monto et al. (1993) sah in seiner Untersuchung einen möglichen Hinweis für serologische Kreuzreaktionen in der zeitlichen Übereinstimmung im Auftreten von PIV-Infektionen. Es gibt aber auch Anhaltspunkte, die eine Kreuzreaktion als mögliche

Ursache für das häufige Auftreten von PIV 1-3-IgM-Ak bei Mehrfachinfektionen eher unwahrscheinlich machen. Kreuzreaktionen von den Serotypen PIV 1 oder 3 mit PIV 2 sind bisher nicht beschrieben worden (Vuorinen et al. 1989, Ray et al. 1990) und in unserer Studie wiesen PIV 1 und PIV 3 deutliche Unterschiede in ihrem epidemiologischen Verhalten auf. Zudem berichtete Vuorinen et al. (1989), daß es bei der Bestimmung von IgM-Ak eher seltener zu Kreuzreaktionen kommt als bei der Bestimmung von IgG-Ak. In unserer Untersuchung wiesen zudem nur 13% der Patienten mit positiven PIV 1-IgM-Ak parallel PIV 3-IgM-Ak auf und umgekehrt nur 11% der Patienten mit PIV 3-IgM-Ak parallel PIV 1-IgM-Ak. Hingegen konnten bei 26% der Patienten mit PIV 1-3-IgM-Ak-Nachweisen PIV 2- und bei 38% Adeno-IgM-Ak gefunden werden. Somit ist es letztlich wahrscheinlich, daß serologische Kreuzreaktionen zwischen PIV 1-3 eher eine untergeordnete Rolle spielen.

Bei den pädiatrischen Patienten mit einer zugrundeliegenden chronischen pulmonalen Vorerkrankung wie Asthma bronchiale oder CF ergab sich in unserer Untersuchung mit 26% bzw. 33% eine besonders hohe Rate an mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen. Drews et al. (1997) beschrieb einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Mehrfachinfektionen und einer vorbestehenden chronischen Lungenerkrankung, die in seiner Untersuchung bei 85% der Patienten mit einer dualen respiratorischen Infektion zugrunde lag. In unserer Studie wiesen 26% (45/172) der Patienten mit mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen eine chronische Lungenerkrankung wie Asthma oder CF auf. Möglicherweise prädisponieren die Lungenveränderungen dieser Patientengruppe zu Verlaufsformen einer chronischen oder latenten Virusinfektionen, wie sie von Marin et al. (2000) bei Patienten mit Asthma bronchiale beschrieben wurden. Interessanterweise weisen in unserer Untersuchung die Patienten mit spastischer Bronchitis die niedrigste Rate an mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen auf.

Auch dem Alter der Patienten kommt eine Bedeutung bei der Entwicklung einer Mehrfachinfektion zu. Drews et al. (1997) beschrieb bei 5% der Patienten mit einer akuten AW-Infektion in einem Alter von 0-79 Jahre eine duale respiratorische Infektion, wobei 42% dieser Patienten  $\leq 4$  Jahre alt waren. In unserer Studie waren vergleichend 51% (88/172) der Patienten mit mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen (0-24

Jahre alt)  $\leq 4$  Jahre alt, wobei sich Mehrfach-IgM-Ak-Nachweise relativ homogen in jedem Lebensalter wiederfinden, wenn auch erst ab den 2 jährigen mehr als nur duale Mehrfach-IgM-Ak zu finden waren. Eine Begründung für den höheren Anteil von mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen bei Kleinkindern liegt eventuell in der deutlich höheren Inzidenz von AW-Infektionen und somit zwangsläufig engeren Abfolge der Infektionen (Monto 1995), da die Kinder durch Krabbelgruppe, Kindergarten und Schule zunehmend gesellschaftlichen Kontakten und damit Infektionsrisiken aussetzen. Da in unserem Studiendesign, wie oben dargelegt, auch kürzlich zurückliegende Infektionen erfaßt werden, können bei zeitlich enger Abfolge der Infektionen mehrfache virale IgM-Ak-Nachweise nachgewiesen werden, obwohl nicht zwangsläufig ein Zusammenhang zwischen den einzelnen Infektionen bestehen muß. Andererseits führen gerade schwerwiegende AW-Infektionen von Kleinkindern mit einer Beteiligung mehrerer unterschiedlicher viraler Erreger bzw. superponierter Infektionen zum Aufsuchen eines Krankenhauses (Drews et al. 1997) und dies hätte somit zur Folge, daß in unserer Untersuchung eine höhere Nachweisrate an Mehrfach-IgM-Ak zu finden ist durch tatsächliche Mehrfachinfektionen, als dies im ambulanten Bereich der Fall wäre. Letztlich läßt sich aber im Rahmen dieser Studie nicht klären, in welchem Prozentsatz es sich um echte virale Mehrfachinfektionen des Respirationstraktes handelt oder inwieweit es scheinbare Mehrfachinfektionen sind.

Nachdem eine Vielzahl an weiteren Studien (Maitreyi et al. 2000, Ekalaksananan et al. 2001, Yun et al. 1995, Weigl et al. 2000) mit unterschiedlichen viralen Nachweismethoden, wie z.B. PCR, EIA oder der Virusisolation aus nasopharyngealen Aspiraten Mehrfachinfektionen nachgewiesen haben, kann zusammenfassend der Schluß gezogen werden, daß es wohl durchaus vorkommt, daß primäre virale AW-Infektionen dazu führen, daß weitere respiratorische Viren eventuell aufgrund der geschädigten oder aufgrund des lokal alterierten Immunsystems superponiert Folgeinfektionen bewirken können. Die hohe Rate an Mehrfachinfektionen beim Asthma bronchiale und bei der CF legt auch hier die Bedeutung eines intakten und funktionsfähigem respiratorischen Epithels als wichtige Infektionsbarriere nahe (Folkerts et al. 1998).

### **5.2.5 Geschlechtsverteilung der Studienpopulation**

Bei der Geschlechtsverteilung der Patienten überwiegt mit m:w 1,5:1 das männliche Geschlecht. Interessanterweise wurde in verschiedenen anderen Publikationen, die ebenfalls respiratorische Infektionen von Kindern zum Gegenstand hatten, ebenfalls sehr häufig ein Überwiegen des männlichen Geschlechts angegeben (Tsai et al. 2001, Flores et al. 2004, Kim et al. 2000, Laurichesse et al. 1999, Chapman et al. 1981). So ergab sich zum Beispiel bei Kim et al. (2000), der akute AW-Infektionen bei koreanischen Kindern untersuchte, ein Verhältnis m:w von 2:1, ähnlich unserer Untersuchung. Chapman et al. (1981) beschrieb bei Tracheobronchitiden eine höhere Prävalenz bei Jungen, die jünger als 6 Jahre alt waren. Flores et al. (2004) fand bei Bronchiolitiden mit m:w 1,6:1 ebenfalls ein Überwiegen des männlichen Geschlechts. Über die Ursache dieser Geschlechtsverteilung können nur spekulative Äußerungen gemacht werden. Es bleibt unklar, ob die Ursachen in medizinischen, genetischen oder sozialen Strukturen zu suchen sind. Es gibt aber auch Studien, die im Rahmen akuter AW-Infektionen bei Kindern ein Überwiegen von weiblichen Patienten herausarbeiteten. So fand Garcia et al. (2001) ein Geschlechtsverhältnis von m:w 1:6 bei hospitalisierten Kindern mit UAW-Infektionen in Spanien. Dies stellt jedoch eher eine Ausnahme dar.

### **5.2.6 Jahreszeitliche Verteilung der akuten viralen respiratorischen Infektionen**

Es ist bekannt, daß die meisten respiratorischen Viren in ihrem Auftreten saisonalen Schwankungen unterliegen (Monto et Sullivan 1993, Eccles 2002, Freymuth et al. 2001, Yun et al. 1995). Eccles (2002) geht davon aus, daß es vor allem durch die Inhalation von kalter und trockener Luft mit konsekutiver Temperaturabsenkung der Nasenschleimhaut zu einer Dysfunktion der mukoziliären Clearance kommt und Viren somit in der kalten Jahreszeit bessere Bedingungen für eine Infektion vorfinden. So ergab sich bestätigend auch in unserer Untersuchung eine jahreszeitliche Häufung der viralen IgM-Ak-Nachweisrate vor allem um die Wintermonate herum. Jedoch bestanden in Bezug auf die untersuchten Viren deutliche Unterschiede in der Epidemiologie.



Bei den Adeno-IgM-Ak-Nachweisen kam es vom Winter 1992 bis Frühjahr 1993 immer wieder zu gehäuftem Auftreten, ohne daß eine eindeutige jahreszeitliche Präferenz auszumachen war. Ein ähnliches Verhalten wiesen auch Patienten mit PIV 2-Infektionen auf, die ebenso eine eindeutige jahreszeitliche Abhängigkeit missen ließen. In vielen Studien wird das sporadische und jahreszeitlich weitgehend unabhängige Auftreten von Adenoviren bestätigt (Yun et al. 1995, Sonoda et al. 1999, Lina et al. 1996, Carlsen et al. 1983, Monto et Sullivan 1992, Al-Hajjar et al. 1998). Hingegen wurden von Monto et Sullivan (1993) für PIV 2 eine Saisonalität im Herbst und frühen Winter angegeben. In unserer Studie waren PIV 2-IgM-Ak fast beständig über den gesamten Untersuchungszeitraum nachweisbar mit einer Lücke im Sommer 1993.

Bei den RSV- wie auch bei den PIV 3-IgM-Ak-Nachweisen zeigte sich ein eindeutiges epidemisches Auftreten mit einer jahreszeitlichen Abhängigkeit in den Wintermonaten. RSV ist nach Literaturangaben neben den Influenzaviren das Virus, das wohl die eindeutigste Saisonalität aufweist. So geben fast sämtliche Studien der gemäßigten Klimazone ein epidemisches Auftreten in den Wintermonaten an (Monto et Sullivan 1993, Carlsen et al. 1983, Simoes et al. 2003, Kellner et al. 1990, Sonoda et al. 1999, Lina et al. 1996, Berner et al. 2001, De Silva et al. 1986, Lanari et al. 2002). Für PIV 3 wurde von Monto (1992) ein Aktivitätsmaximum im Herbst angegeben, wobei auch in den übrigen Monaten PIV 3 nachweisbar war. Von Sonoda et al. (1999) in Japan wurde für PIV 3 ein Maximum im Frühling beschrieben, von Maitreyi et al. (2000), allerdings in Indien, in den Wintermonaten. Al-Hajjar et al. (1998) beschrieb den Beginn der PIV 3-Aktivität in Saudi Arabien im September mit Gipfel im November und Dezember. So wird in unserer Untersuchung bestätigt, daß PIV 3 ein epidemisches Auftreten aufweist mit geographisch abhängigem saisonalen Bezug.

Patienten mit PIV 1-IgM-Ak konnten bis auf Juni und September 1993 in allen Monaten nachgewiesen werden und es ergab sich bei diesem Virus eine Tendenz zum vermehrten Auftreten in den Herbst- und Wintermonaten. Dies spiegelt sich auch in Literaturangaben wieder. Für PIV 1 wurden von Monto et Sullivan (1993) ein ähnliches Auftreten wie für PIV 2 beschrieben mit Infektions-Häufungen im Herbst

und frühen Winter. Al-Hajjar et al. (1998) gab für PIV 1 in Saudi Arabien eine saisonal erhöhte Prävalenz in den Wintermonaten an.

Zusammenfassend ist somit die Prävalenz der hier untersuchten Viren des Respirationstraktes, stellvertretend für einen Ort der gemäßigten Klimazone, weitgehend konsistent mit den Angaben in der Literatur.

### **5.3 HCoV 229E**

HCoV 229E kommt weltweit vor (McIntosh 1996) und stellt nach den Rhinoviren die 2. häufigste Ursache für OAW-Infektionen dar, die sich typischerweise als selbstlimitierende Rhinitis oder Rhinopharyngitis äußern (Kuljic-Kapulica et al. 1992, Larson et al. 1980, McIntosh et al. 1974, Monto et al. 1974).

Es gibt aber zwischenzeitlich auch etliche Studien, die HCoV nicht nur mit banalen OAW-Infektionen sondern auch mit zum Teil schwer verlaufenden UAW-Infektionen in Verbindung bringen (Monto et al. 1974, Wenzel et al. 1974, Wiselka et al. 1993, El Sahly et al. 2000, Riski et Hovi 1980, McIntosh et al. 1974, Matsumoto et al. 1992). In unserer Untersuchung sollte nun ermittelt werden, inwieweit HCoV 229E an akuten AW-Infektionen bei Kindern des Münchner Raums beteiligt ist. Zusätzlich sollte die Durchseuchungsrate mit HCoV 229E bei den untersuchten Kindern festgestellt werden.

Zur Ermittlung der Durchseuchungsrate von HCoV 229E bei den pädiatrischen Patienten sowie zum Nachweis der Akutinfektion mit HCoV 229E wurde ein indirekter IFT zur Detektion von spezifischen IgG- und IgM-Ak angewendet. In bisherigen Studien wurden bei serologischen Tests unabhängig vom jeweiligen Verfahren nur spezifische IgG-Ak gegen HCoV 229E analysiert, um zum einen die Durchseuchungsrate festzustellen und zum anderen anhand von paarweise abgenommenen Serumproben in einem Mindestabstand von 10-15 Tagen über einen IgG-Ak-Anstieg die Akutinfektion nachzuweisen (Bradburne et al. 1972, McIntosh 1974, Monto 1974, El-Sahly et al. 2000). In unserer Untersuchung wurde nun erstmalig die Testung von virusspezifischen IgM-Ak zum Nachweis einer Akutinfektion mit HCoV 229E angewendet. Bei HCoV werden im Rahmen der spezifischen humoralen Immunantwort auch Ak der Klasse IgM gebildet (Callow et al. 1990, O'Toole et al. 1989). Bei einer HCoV-Infektion können nach Fang et al. (2003) bei über 90% der erkrankten Personen IgG- und IgM-Ak nachgewiesen werden. Bei Bestimmung dieser HCoV 229E-IgM-Ak mittels eines IFT können diese dann als Indikator für eine akute bzw. kürzliche HCoV-Infektion herangezogen werden. Der

Vorteil dieser Methode liegt vor allem darin, daß eine Serumprobe aus der Akutphase einer AW-Infektion zum Nachweis genügt.

### **5.3.1 Durchseuchungsrate der pädiatrischen Patienten mit HCoV 229E**

Bei Ermittlung der Durchseuchungsrate mit HCoV 229E wurde von Callow et al. (1990) die Dauer des IgG-Ak-Nachweises nach einer HCoV-Infektion mit 12-18 Monaten angegeben. Nach MacNaughton et al. (1981) wurde die durchschnittliche individuelle Häufigkeit einer HCoV-Infektion pro Person mit einer Infektion alle 8 Monate angegeben.

Entsprechend können epidemiologisch in vielen Ländern bei bis zu 90-100% der Erwachsenen IgG-Ak gegen HCoV nachgewiesen werden (Hovi et al. 1979, Hasony et MacNaughton 1982, Hendley et al. 1972, Mathur et al. 1982), wobei eine mit zunehmendem Alter ansteigende Durchseuchungsrate mit HCoV beschrieben wird (Hruskova et al. 1990, McIntosh 1996, Lehel et al. 1983, Cereda et al. 1986, Schmidt et al. 1986). Ukkonen et al. (1984) fand in seiner Studie in Finnland bei 40% der 2 jährigen und nahezu 100% der 6 jährigen Kinder IgG-Ak gegen HCoV.

Bei den pädiatrischen Patienten unserer Untersuchung ergab sich bestätigend eine mit dem Alter ansteigende Nachweisrate von spezifischen IgG-Ak gegen HCoV 229E. So wiesen die Patienten in der Altersgruppe von 7-24 Monate mit 12% (13/107) die niedrigste Durchseuchungsrate auf. In den folgenden Altersgruppen kam es dann zu einem sukzessiven Anstieg der HCoV 229E-IgG-Ak. So fanden sich in der Gruppe der 2-4 jährigen, einem Alter mit möglichem Eintritt in den Kindergarten, bei 32% (29/92), in der Gruppe der 5-7 jährigen Kinder (Einschulung) bei 44% (17/39) und schließlich in der Gruppe der älteren Schulkinder mit 8 Jahren und darüber bei 72% (56/78) der Kinder spezifische IgG-Ak gegen HCoV 229E.

Für diesen altersbezogenen kontinuierlichen Anstieg der Durchseuchungsrate mit HCoV 229E können durchaus interpersonelle Kontakte auf zunehmend breiterer Basis verantwortlich gemacht werden, da es sich bei diesem Erreger um ein typisches Virus

des Respirationstraktes handelt, das vor allem OAW-Infektionen auslöst und typischerweise durch Tröpfchen- oder Schmierinfektion übertragen werden kann (Ijaz et al. 1985, MacNaughton et al. 1983, Monto 1994, Winther et al. 1998).

Eine Ausnahme bildete die Altersgruppe der 0-6 Monate alten Neugeborenen und Säuglinge, bei denen mit 26% (14/54) eine höhere Rate an HCoV 229E-IgG-Ak nachweisbar war als in der folgenden Altersgruppe der 7-24 Monate alten Kleinkinder. Die hohe IgG-Ak-Nachweisrate dieser Altersgruppe kann durch das Vorhandensein maternaler spezifischer IgG-Ak erklärt werden, die im Rahmen der maternalen Immunisation von einer HCoV-IgG-Ak-positiven Mutter auf das Kind diaplazentar übertragen wird (Englund et al. 1998, Glezen et al. 1999). Dies schließt natürlich Neuinfektionen nicht aus, trägt aber wesentlich zum Schutz des Neugeborenen bei (Monto et al. 1993). Lehel et al. (1983) fand in seiner Untersuchung an einer Population in Ungarn in Bezug auf die Durchseuchung mit HCoV OC43 bei 51% der Neugeborenen und Säuglinge der Altersgruppe von 0-7 Monaten HCoV-IgG-Ak, hingegen in der Gruppe der 7-11 Monate alten bei nur 23,5%. Mit weiter zunehmendem Alter stieg die Prävalenz der positiven Resultate dann auf bis zu 71% bei den 15-19 Jahre alten Personen an. Somit sind diese Ergebnisse durchaus vergleichbar mit unseren Resultaten.

Insgesamt konnten in unserer Studie im untersuchten 2 Jahres-Zeitraum bei 129 von 370 getesteten Patienten IgG-Ak gegen HCoV 229E nachgewiesen werden. Dies entsprach einem Gesamtanteil von 35% der Kinder.

Hruskova et al. (1990) beschrieb einen geographischen Einfluß auf die Prävalenz von HCoV. Mittels der ELISA-Technik konnte er zeigen, daß im gleichen Zeitraum bei Personen aus 4 verschiedenen Regionen der tschechischen Republik sich zwar kongruent jeweils ein altersabhängiger Anstieg der Durchseuchungsrate von IgG-Ak gegen HCoV 229E ergab, jedoch mit sehr unterschiedlicher Ausprägung und Verlauf. So waren in einer dieser Regionen bei den bis zu 5 jährigen Kindern bereits bei über 60% positive IgG-Ak nachweisbar, wohingegen in anderen Regionen bei den bis zu 10 jährigen Kindern nur bis zu 30% HCoV 229E-IgG-Ak nachgewiesen werden konnten.

Somit müssen auch unsere Ergebnisse als ein regionales Ergebnis der Durchseuchungsrate von Kindern des Münchner Raums, Deutschland, mit HCoV 229E gesehen werden.

### **5.3.2 Patienten mit akuter HCoV 229E-Infektion**

Bei fast der Hälfte der Studienpopulation konnten keine IgM-Ak gegen Adenoviren, RSV oder PIV 1-3 gefunden werden, obwohl bei diesen Kindern Symptome und Zeichen einer respiratorischen Infektion Anlaß zur virologischen Diagnostik gaben. Daher stellte sich die Frage nach weiteren möglichen viralen Erregern, zu denen nach Literaturangaben auch HCoV gezählt wird (Monto et al. 1974, Wenzel et al. 1974, Wiselka et al. 1993, El Sahly et al. 2000, Riski et Hovi 1980, McIntosh et al. 1974, Matsumoto et al. 1992).

In unserer Untersuchung konnten bei 4% (16/370) der pädiatrischen Patienten mit einer akuten UAW-Infektion HCoV 229E-IgM-Ak nachgewiesen werden. Somit kann davon ausgegangen werden, daß bei diesen 16 Patienten eine akute HCoV 229E-Infektion vorlag, wobei 14 dieser 16 Patienten Symptome einer akuten UAW-Infektion und 2 Patienten Symptome einer OAW-Infektion aufwiesen.

Vabret et al. (2001) beschrieb mittels der rt-PCR bei 3% der adulten Personen mit akuten UAW-Infektionen den Anhalt für eine HCoV-Infektion. Aber auch bei Kindern gelang bereits der Nachweis von HCoV bei UAW-Infektionen. Riski et Hovi (1980) konnten nicht nur bei älteren Patienten sondern auch bei Kleinkindern eine Beteiligung von HCoV an UAW-Infektionen zeigen und McIntosh et al. (1974) wies bei 2 Kindern mit Pneumonien HCoV 229E in der bronchoalveolären Lavage nach. Hruskova et al. (1990) stellte über einen Serum-IgG-Ak-Titer-Anstieg bei 3% der Kinder mit UAW-Infektionen im Alter von 2 Monaten bis 17 Jahren den Anhalt für eine HCoV 229E-Infektion fest. El-Sahly et al. (2000) konnte bei 4% der Kinder, die wegen akuter UAW-Infektionen hospitalisiert wurden, HCoV nachweisen. Bei Kindern können aber auch deutlich höhere Nachweisraten von HCoV bei UAW-Infektionen beobachtet werden. Macnaughton et al. (1983) wie auch Isaacs et al. (1983) wiesen bei 28-30% der

Kinder, die wegen akuter AW-Infektionen hospitalisiert wurden, HCoV nach. Hierbei bestanden bei 30% dieser Kinder Zeichen einer UAW-Infektion mit einer Prädominanz der spastischen Bronchitis. Sizun et al. (1995) zeigte, daß bei 20% der Frühgeborenen sich eine nosokomiale AW-Infektion mit HCoV entwickeln kann. In Indien fand Mathur et al. (1982) bei 8,7% der hospitalisierten Kindern mit akuten AW-Infektionen den Hinweis für eine HCoV 229E-Infektion. Hierbei betrug der Anteil von HCoV bei den Patienten mit einer Erkältungskrankheit 15,7% und bei den Patienten mit Bronchitis 7,1%. McIntosh et al. (1974) konnte bei seiner Untersuchung von 417 hospitalisierten Kindern unter 18 Monaten mit den Zeichen einer UAW-Infektion bei 8,2% den Anhalt für eine HCoV-Infektion nachweisen.

Unsere HCoV 229E-Nachweisrate von 4% entspricht in etwa den Ergebnissen von Hruskova et al. (1990) von 3% in Tschechien, Europa, und von El-Sahly et al. (2000) von 4% in Houston, USA. Insgesamt bestätigen unsere Ergebnisse somit, daß HCoV 229E durchaus in der Lage ist, bei Kindern klinisch relevante UAW-Infektionen auszulösen.

In unserer Untersuchung konnten bei etwa der Hälfte (7/16) aller HCoV 229E-IgM-Ak-positiven Patienten parallel IgG-Ak gegen HCoV 229E festgestellt werden. Dies kann entweder durch einen Anstieg der IgG-Ak im Rahmen des normalen Ablaufs einer Immunantwort oder durch eine Reinfektion mit HCoV 229E bei präexistierenden IgG-Ak erklärt werden. Reinfektionen mit HCoV sind trotz präexistierender Ak durchaus nicht selten (Isaacs et al. 1983). So beobachtete Monto et al. (1974), daß über 80% der ermittelten HCoV-Infektionen sich trotz bereits vorhandener spezifischer IgG-Ak ereigneten und von Schmidt et al. (1986) wurde über häufige Reinfektionen mit einer Latenzzeit von 2-4 Monaten nach der letzten HCoV-Infektion berichtet. Von Kaye et Dowdle (1975) wurden bei  $\frac{1}{3}$  der Kinder mit akuten HCoV 229E-Infektionen präexistierende Ak nachgewiesen. So ist jedenfalls die Detektion von präexistierenden spezifischen IgG-Ak bei Kindern mit akuter HCoV-Infektion keine Seltenheit.

Die relativ niedrige Nachweisrate von 4% an Akutinfektionen steht der hohen Durchseuchungsrate mit HCoV 229E entgegen. Macnaughton et al. (1982) stellte

bereits fest, daß HCoV im Verlauf eines Jahres fortwährend auftritt, aber häufig nur subklinische Infektionen oder banale bzw. kaum bemerkte OAW-Infektionen verursacht. Nach seiner Ansicht bewirken nur höher virulente HCoV-Typen zyklisch auftretende epidemische Infektionen, die bei Kindern dann zu gelegentlichen Hospitalisationen führen können. Der Großteil der HCoV-Infektionen ist jedoch dem ambulanten Bereich vorbehalten.

### **5.3.3 Altersdurchschnitt, Geschlechtsverteilung und jahreszeitliches Auftreten der akuten HCoV 229E-Infektion**

Die jahreszeitliche Inzidenz der HCoV-Infektion ist komplex. So kann HCoV prinzipiell während eines ganzen Jahres auftreten (El-Sahly et al. 2000), weist zugleich aber auch ein epidemisches Verhalten mit zyklischen Infektionsspitzen auf (Kaye et Dowdle 1975, Macnaughton 1982, McIntosh 1996). In manchen Jahren kann es nur zum einem sporadischen Auftreten von HCoV kommen, während in anderen Jahren Epidemien von HCoV Typ 229E oder OC43 folgen (Macnaughton 1982).

In unserer Untersuchung konnte ebenfalls ein zyklisches Muster im Auftreten von HCoV 229E erkannt werden, wenn auch die positive Fallzahl zu gering war, um hieraus eine signifikante Aussage ableiten zu können. So zeigten sich Häufungen in der Inzidenz der akuten HCoV 229E-Infektionen im Frühjahr 1992 sowie im Herbst 1993, während es ansonsten im Verlauf beider Untersuchungsjahre nur zu vereinzelt Fällen kam. Dieses epidemische Auftreten von HCoV-Infektionen im Frühjahr sowie Herbst wurde in gleicher Weise von McIntosh et al. (1974) beobachtet, der Infektionshäufungen im Frühjahr und im Herbst der Jahre 1967 und 1968 fand. Von Mathur et al. (1982) wurde in Indien über einen Beobachtungszeitraum von einem Jahr eine erhöhte Inzidenz von HCoV 229E in den Monaten Februar bis April angegeben. Lina et al. (1996) gab in Frankreich 2 Infektionsspitzen von HCoV im späten Herbst sowie im späten Winter an. Macnaughton (1982), Schmidt et al. (1986) sowie Isaacs et al. (1983) beschrieben ein hiervon abweichendes jahreszeitliches Auftreten mit erhöhten Inzidenzen von HCoV 229E neben den Winter- in den Sommermonaten.



Eine grundlegende Gemeinsamkeit der meisten Studien ist jedoch, daß es sich oftmals um ein 2-gipfliges Auftreten von HCoV innerhalb eines Jahres handelt. Von Macnaughton (1982) wurde angegeben, daß sich die Serogruppen OC43 und 229E hierbei diskordant verhalten, also nie gemeinsam Infektionsspitzen verursachen. Dies könnte erklären, warum es zwischen den Infektionsspitzen vom Herbst 1992 bis zum Frühjahr 1993 zu keinen weiteren Häufungen von HCoV 229E-Infektionen gekommen ist, da in unserer Untersuchung nur HCoV 229E untersucht wurde und somit eine Interferenz mit HCoV OC43 nicht festgestellt werden kann.

Das Alter der 16 pädiatrischen Patienten mit akuter HCoV 229E-Infektion reichte von 2 Monaten bis 9 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 2,4 Jahren, das unter dem Durchschnittsalter der gesamten HCoV-Studienpopulation von 4,3 Jahren lag. 9 von 16 HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten waren 1 Jahr alt oder jünger, nur 2 Patienten älter als 4 Jahre alt. McIntosh et al. (1974) konnte bei hospitalisierten Kindern unter 18 Monaten mit einer UAW-Infektion bei 8,7% den Nachweis von HCoV erbringen und so scheint es, daß HCoV 229E vor allem bei Kleinkindern und Säuglingen zu klinisch relevanten akuten AW-Infektionen führt.

Die Geschlechtsverteilung lag in unserer Untersuchung mit m:w bei 13:3 und zeigte somit ein deutliches Überwiegen des männlichen Geschlechts. Wie unter Absatz 5.1.5 beschrieben, sind nach unserer Untersuchung wie auch nach Literaturangaben bei pädiatrischen Patienten häufiger das männliche als das weibliche Geschlecht von viralen respiratorischen Infektionen betroffen. Dies ist anscheinend auch bei Infektionen mit HCoV der Fall. So wurde auch von Riski et Hovi (1980) bei Patienten mit HCoV OC43-Infektionen ein deutliches Überwiegen des männlichen Geschlechts festgestellt. Die Fallzahl an HCoV 229E positiven Kindern war aber in unserer Untersuchung sicherlich zu gering für eine signifikante Aussage, jedoch zeigt sich in Zusammenschau mit der Arbeit von Riski et Hovi (1980) zumindest tendentiell, daß HCoV 229E bei männlichen pädiatrischen Patienten häufiger zum Aufsuchen eines Krankenhauses führt als bei weiblichen Patienten. Ob die Ursachen hierfür in genetischen, medizinischen oder soziologischen Kriterien zu suchen sind, könnte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

#### **5.3.4 Klinik und Verlauf bei den HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten**

Grundlegende Daten über die Klinik einer HCoV-Infektion erhielt man aus medizinischen Versuchen (Bradburne et al. 1967, Bradburne et al. 1972, Reed 1984), bei denen gesunden Probanden HCoV nasal inokuliert und der Krankheitsverlauf prospektiv und kontrolliert beurteilt wurde. Die typische Verlaufsform war hierbei die OAW-Infektion. Bei nahezu allen Erkrankten bestand eine nasale Obstruktion mit Rhinorrhoe, der im Verlauf bei der Hälfte der Patienten ein allgemeines Krankheitsgefühl, Kopfschmerzen sowie leichte Halsschmerzen hinzutraten. 20% der Patienten entwickelten Husten, bei etwa 10% kam es zu leichtem Fieber. Der Verlauf einer HCoV-Infektion war generell milde und selbstlimitierend, so daß Hospitalisationen wegen OAW-Infektionen wohl eher die Ausnahme darstellen.

In unserer Untersuchung wurde nur bei 2 von den 16 HCoV 229E-IgM-Ak positiven Patienten die Entlassungs-Diagnose einer OAW-Infektion gestellt. Hierbei konnten aber bei diesen beiden Patienten parallel weitere Erkrankungen festgestellt werden. Bei dem einen bestand Z.n. Knochenmarkstransplantation bei schwerem kombiniertem Immundefekt und beim anderen der Anhalt für eine Mycoplasmeninfektion bei positivem Mycoplasma-IgM-Ak-Titer. Bei beiden Patienten handelte es sich folglich nicht nur um eine einfache HCoV-Infektion, die zum Aufsuchen einer Klinik geführt hat, sondern es lagen weitere Faktoren vor, die eine respiratorische Erkrankung oder deren Aggravation herbeiführen konnten. Beide klinische Verläufe hatten sich letztendlich aber milde und selbstlimitierend gezeigt. Insgesamt kann somit konstatiert werden, daß HCoV 229E bei OAW-Infektionen im Klinikbereich wohl eher eine untergeordnete Rolle spielt.

Bei den anderen 14 HCoV 229E-IgM-Ak positiven Kindern fanden sich Symptome und Zeichen einer UAW-Infektion. Bei 3 dieser Patienten konnten parallel Mycoplasma-IgM-Ak festgestellt werden, wobei jeweils die Entlassungsdiagnose einer Mycoplasmenpneumonie gestellt wurde. Ein weiterer Patient wies eine zugrundeliegende vertikale HIV-Infektion in Kombination mit einer chronischen Hepatitis C auf. Mycoplasmen gelten als typische Auslöser einer Pneumonie

(McCracken 2000) und wurden interessanterweise auch von Riski et Hovi (1980) parallel mit HCoV-Infektionen beschrieben. Bei diesen Patienten mit kombinierten bakteriell-viralen Infektionen kann natürlich retrospektiv nicht entschieden werden, inwieweit HCoV 229E oder die Mycoplasmen an der Klinik der jeweiligen Patienten beteiligt sind.

Bei 9 der 14 Patienten mit HCoV-229E positiven UAW-Infektionen konnten aber auch zusätzlich Zeichen einer OAW-Infektion beobachtet werden, in 2 Fällen mit einer Rhinitis sowie in 9 Fällen mit einer Rachenrötung. Dies verdeutlicht, daß es bei einer HCoV 229E-Infektion eher selten zu einer isolierten Affektion der unteren Atemwege kommt. Eventuell werden erst nach einer primären Infektion der oberen Atemwege als Präselektionsort für HCoV (Bradburne et al. 1967, Bradburne et al. 1972, Reed 1984) die unteren Atemwege miteinbezogen. Diese These wird durch die Beobachtung gestützt, daß die Virusvermehrung von HCoV optimal bei 32-33°C abläuft und somit die oberen Atemwege und im speziellen die Nasenschleimhaut, aber auch der Rachenraum prädestinierte Infektionslokalisationen für HCoV darstellen (MacNaughton et al. 1980). Zusätzlich zur Rachenrötung wurde in unserer Studie bei 2 Patienten eine Rötung des Trommelfells beschrieben. Sowohl Pitkäranta et al. (1998) sowie Nokso-Koivisto et al. (1999) konnten anhand der rt-PCR zeigen, daß HCoV-Infektionen auch an Mittelohrentzündungen beteiligt sind. Hierbei wurde bei Kindern mit Mittelohrentzündung in 3-17% der Fälle HCoV-RNA in der Mittelohrflüssigkeit nachgewiesen.

Bei den 4 Patienten mit positivem Mycoplasma-IgM-Ak-Nachweis sowie bei den beiden Patienten mit schwerer begleitender Grunderkrankung, bei denen von einer veränderten Immunitätslage auszugehen ist, kann ein abweichender Krankheitsverlauf der HCoV-Infektion nicht ausgeschlossen werden. Möchte man aber die Klinik einer HCoV 229E Infektion herausarbeiten, so verbleiben letztlich in der retrospektiven Analyse 10 pädiatrische Patienten, bei denen außer dem positiven Nachweis von HCoV 229E-IgM-Ak keine weiteren viralen oder bakteriellen Ursachen festgestellt und keine gravierenden Begleiterkrankungen aus der Aktenlage ersichtlich wurden.

Bei der klinischen Symptomatik zeigte sich bei all diesen 10 Patienten als führendes Symptom Husten. Eine breit angelegte Studie in der Region Rhone-Alpes, Frankreich, von Lina et al. (1996) beschrieb bei ambulanten Patienten mit HCoV-Infektionen ebenso als führendes Symptom Husten (72%) gefolgt von einer Rhinorrhoe (67%). Auch Kaye et Dowdle (1975), die bei 4% der Kinder im Alter von 5 bis 19 Jahren mit akuten respiratorischen Infektionen HCoV 229E nachweisen konnten, beobachteten als führende Symptome Husten, Schnupfen und Halsschmerzen. Bezüglich der Rhinorrhoe steht dies allerdings im Gegensatz zu der in unserer Studie ermittelten Rate von nur 20%. Dies ist aber wahrscheinlich auf den Unterschied im Studiendesign zurückzuführen, da bei ambulanten Patienten eher der klassische Verlauf einer HCoV-Infektion im Sinne der Rhinitis bzw. Rhinopharyngitis zu erwarten ist (Bradburne et al. 1967 und 1972). Dies ist möglicherweise auch der Grund für die Abweichung von den von Siddell (1995) zusammengefaßten Untersuchungsbefunden der experimentellen HCoV-Infektionen, bei denen fast 100% eine Rhinorrhoe und nur 21-31% einen Husten entwickelten. Die bei 54-68% vorhandenen Halsschmerzen hingegen decken sich mit den bei uns erhobenen Befunden, in denen bei 50% der Patienten eine Rachenrötung als Korrelat für eine Pharyngitis gesehen wurde. Von Kaye et Dowdle (1975) wurde die Rachenrötung wie auch Fieber als eines der führenden klinischen Zeichen beschrieben. Fieber wurde von Siddell (1995) für 9-23% der Patienten angegeben. In unserer Untersuchung bestand bei 50% der immunkompetenten Kinder ohne Hinweis für eine anderweitige virale oder bakterielle Infektion erhöhte Temperatur bis 38,5°C. Bei diesen 10 Patienten ergaben sich maximale Leukozytenwerte bis zu 16.000/µl und CRP-Werte bis zu 2,6 mg/dl.

Bei den Röntgen-Thorax Aufnahmen, die bei 7 von den 10 Patienten mit isolierter HCoV 229E-Infektion durchgeführt wurden, zeigte sich als führender Befund eine peribronchiale Zeichnungsvermehrung, in 4 Fällen in Kombination mit einer Überblähung der Lunge als Hinweis für eine spastische Komponente der Atemwege. Bei 2 weiteren Patienten, bei denen die Entlassungsdiagnose einer Pneumonie gestellt wurde, wurde im Röntgen-Thorax eine perihiläre Verdichtung mit Infiltrationen in beiden Lungen-Unterfeldern beschrieben. McIntosh et al. beobachtete bereits 1973 radiographische Veränderungen bei Kindern mit HCoV-Pneumonie im Alter von 1-5

Jahren. Somit können HCoV 229E-Infektionen in Verbindung mit radiologisch nachweisbaren Veränderungen des bronchopulmonalen Systems gebracht werden.

Als zweithäufigster Befund ergaben sich bei 8 der 10 Patienten (80%) asthmoide Zeichen wie zum Beispiel verlängertes Expirium oder auskultatorisches Giemen, Brummen oder Pfeifen. Hierbei war jedoch nur bei 2 Patienten eine asthmatische Erkrankung bekannt gewesen, so daß bei 60% erstmalig asthmoide Atemwegssymptome festgestellt werden konnten. Dies belegt eindrücklich eine asthmogene Potenz von HCoV 229E, die auch von weiteren Autoren beschrieben wurde (McIntosh et al. 1974, Montalbano et al. 2002, Lehel et al. 1983, Vabret et al. 2001, Trigg et al. 1996). So brachte McIntosh et al. (1974) wie auch Lehel et al. (1983) Patienten mit HCoV-Infektion mit der Entwicklung einer spastischen Bronchitis oder Exazerbationen eines Asthma bronchiale in Zusammenhang. Vabret et al. (2001) und Freymuth et al. (1999) konnten bei 4% der Kinder mit einer akuten Asthma-Exazerbation HCoV nachweisen. Marin et al. (2000) fand bei Kindern mit Asthma bronchiale selbst im symptomfreien Intervall im nasopharyngealen Sekret genomisches Material von HCoV, hingegen in der gesunden Kontrollgruppe nicht. HCoV steht als Auslöser von Exazerbationen eines Asthmas an 2. Stelle hinter den Rhinoviren (Johnston et al. 1995). Evident ist sicherlich die Differenzierung zwischen der Provokation einer asthmoiden oder spastischen Atemwegssymptomatik, der Triggerung einer Asthma-Erkrankung und letztlich der Exazerbation eines bereits bestehenden Asthmas (Tuffaha et al. 2000). Studien belegen zum einen, daß Kinder, die im Kleinkindesalter UAW-Infektionen durchmachten, im Schulalter vermehrt Asthma entwickeln (Nja et al. 2003) und zum anderen, daß akute virale AW-Infektionen Exazerbationen eines bereits bestehenden Asthmas provozieren können (Nicholson et al. 1993, Folkerts et al. 1998). So scheint auch HCoV 229E in der Lage zu sein, sowohl eine primäre asthmoide Symptomatik bei Kindern zu provozieren, als auch Exazerbationen eines bereits bestehenden Asthma bronchiale herbeizuführen. Ob allerdings HCoV zur Entwicklung eines chronischen Asthma bronchiale beiträgt, kann im Rahmen dieser Studie nicht beantwortet werden.

Zusammenfassend wird durch unsere Studie bestätigt, daß HCoV durchaus in der Lage ist, bei Kindern klinisch relevante UAW-Infektionen zu verursachen. Zudem konnte durch unsere Studie gezeigt werden, daß HCoV im Kindesalter unerwartet häufig eine asthmoide Symptomatik auslösen bzw. eine Exazerbation eines bestehenden Asthma bronchiale herbeiführen kann.

## **6. Zusammenfassung**

Virale Infektionen der oberen und unteren Atemwege gehören zu den häufigsten Erkrankungen im Kindesalter. In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle von akuten Infektionen mit HCoV 229E sowie mit RSV, Adeno, PIV 1-3 bei Kindern mit verschiedenen Atemwegserkrankungen im Krankenhausbereich näher untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es zum einen bei Kindern, die aufgrund einer akuten AW-Infektion in der Dr. von Haunerschen Kinderklinik ambulant oder stationär behandelt wurden, die Häufigkeit, Symptomatik und jahreszeitliche Verteilung von Infektionen mit RSV, Adeno sowie PIV 1-3 zu untersuchen. Als serologischer Test diente ein indirekter IFT zur Ermittlung der jeweiligen spezifischen IgM-Ak. Zum anderen war es Ziel der Arbeit, die Häufigkeit, Durchseuchung, klinische Symptomatik und jahreszeitliche Verteilung von akuten HCoV-Infektionen näher zu untersuchen. Hierfür wurde eigens ein indirekter IFT entwickelt.

### **6.1 RSV, Adenovirus und PIV 1-3**

498 von insgesamt 946 (53%) untersuchten Patienten mit einem Durchschnittsalter von 4,2 Jahren (0-29 Jahre) wiesen IgM-Ak gegen mindestens eines der untersuchten respiratorischen Viren Adenovirus, RSV oder PIV 1-3 auf. Bei 326/498 Patienten (65%) konnten hierbei IgM-Ak gegen nur eines der untersuchten Viren nachgewiesen werden: 155 Patienten (16%) hatten Adeno-IgM-Ak, 97 (10%) PIV 1-3-IgM-Ak und 74 (8%) RSV-IgM-Ak. Bei 172 von den 498 Patienten konnten IgM-Ak gegen zwei oder mehr Viren gleichzeitig festgestellt werden: 137 Patienten wiesen PIV 1-3 IgM-Ak auf, 130 Adeno-IgM-Ak und 80 RSV-IgM-Ak. Zusammenfassend konnten somit bei 30% (285) aller 946 Patienten Adeno-IgM-Ak, bei 25% (234) PIV 1-3-IgM-Ak und bei 16% (154) RSV-IgM-Ak nachgewiesen werden.

In Bezug auf die Altersstruktur konnten von den 432 Kindern, die 3 Jahre oder jünger waren, bei 47% (205/432) IgM-Ak gegen mindestens eines der untersuchten Viren des Respirationstraktes dedektiert werden. Hierbei war die Anzahl der Patienten, die RSV-

IgM-Ak aufwiesen mit 95 am höchsten (22%), gefolgt von 86 Patienten mit Adeno-IgM-Ak (20%) sowie 66 Patienten (15%) mit PIV 1-3-IgM-Ak. Von den 514 Patienten, die 4 Jahre oder älter waren, wurden bei 57% (293/514) positive IgM-Ak nachgewiesen. Am häufigsten wurden Adeno-IgM-Ak (68%, 199/293) gefunden, gefolgt von PIV 1-3-IgM-Ak-Nachweisen (57%, 168/293). Am seltensten konnte bei diesen Patienten IgM-Ak gegen RSV nachgewiesen werden (20%, 59/293). Der Alters-Median der RSV-infizierten Kinder betrug 1,5 Jahre, der Adenovirus- und PIV 2- und 3- infizierten Kinder 4 Jahre und der PIV 1- infizierten Kinder 5 Jahre. 62% der RSV-IgM-Ak positiven Patienten waren  $\leq 2$  Jahre alt und 51%  $\leq 1$  Jahr. Die Prävalenz von Adeno-IgM-Ak zeigte sich weitgehend altersunabhängig mit einem leichten Anstieg zum 5 Lebensjahr hin, während PIV 1-3-IgM-Ak eher bei älteren Kindern ab 3 Jahren nachweisbar waren. Insgesamt ergab sich die höchste virale IgM-Ak-Nachweisrate mit 70% bei den Patienten im 5. Lebensjahr, die niedrigste virale Nachweisrate bestand mit 43% (87/201) bei den Kinder im 1. Lebensjahr.

Generell wurden virale IgM-Ak am häufigsten bei Patienten mit CF (64%) oder mit Asthma bronchiale (61%) beobachtet. Zirka die Hälfte der Patienten mit Asthma bronchiale (26/57) und 41% (37/90) der Patienten mit CF hatten positive Adeno-IgM-Ak, gefolgt von PIV 2 (Asthma: 18%, CF: 27%) und RSV (Asthma 16%, CF: 24%). Bei 51% der Patienten mit OAW-Infektionen ergab sich der Anhalt für eine virale Infektion. Der häufigste IgM-Ak-Nachweis gelang hierbei gegen Adenovirus (32%), gefolgt von PIV 1-3 (23%) und RSV (11%). Bei Patienten mit UAW-Infektionen konnten bei 53% virusspezifische IgM-Ak nachgewiesen werden. Der führende IgM-Ak-Nachweis ergab sich auch bei diesen Patienten gegen Adenovirus (28%), gefolgt von Nachweisen gegen PIV 1-3 (25%) und gegen RSV (17%). Am seltensten wurden virale IgM-Ak mit 44% bei Patienten mit akuter AW-Infektionen bei schwerer Grunderkrankung beobachtet. Hierbei konnten IgM-Ak gegen Adenovirus (23%), RSV (19%) und PIV 1-3 (17%) in etwa gleichhäufig nachgewiesen werden. Patienten mit spastischer Bronchitis (46% IgM-Ak-Nachweise) bildeten die einzige Diagnosegruppe, bei denen mit 15% Adeno-IgM-Ak am seltensten nachgewiesen wurden und RSV-IgM-Ak bei 17% und PIV 1-3-IgM bei 21% gefunden wurden.



Bei der jahreszeitlichen Verteilung traten vor allem RSV, aber auch PIV 3 epidemisch in den Wintermonaten auf. PIV 1 zeigte ein vermehrtes Auftreten in den Herbst- und Wintermonaten und Adenovirus sowie PIV 2 führten weitgehend unabhängig von der Jahreszeit zu wiederkehrenden Infektionsspitzen.

Zusammenfassend konnte in dieser Studie beobachtet werden, daß bei 53% der Patienten mit akuter AW-Infektion virale IgM-Ak vorlagen. Mit Ausnahme der spastischen Bronchitis, konnten unabhängig von der gestellten Diagnose Adenovirus-IgM-Ak am häufigsten nachgewiesen werden. Des weiteren konnte gezeigt werden, daß Patienten mit pulmonalen Grunderkrankungen wie Asthma bronchiale oder CF im Vergleich zu anderen Kindern offensichtlich häufiger respiratorische Virusinfektionen durchmachen und daß es bei diesen Patienten besonders häufig zu mehrfachen IgM-Ak-Nachweisen kommt. Insgesamt konnten wir in unserer Studie bestätigen, daß Virusinfektionen des Respirationstraktes eine relevante Rolle bei der Hospitalisation von Kindern spielen.

## **6.2 HCoV 229E**

In unserer Studie wurden Patienten ohne Hinweis auf eine akute Infektion mit Adenovirus, RSV oder PIV 1-3 im weiteren auf IgM- und IgG-Ak gegen HCoV 229E hin untersucht, um die Häufigkeit von akuten HCoV-Infektionen als auch die Durchseuchungsrate bei pädiatrischen Patienten zu analysieren.

Es wurden 370 Patienten mit einem Altersdurchschnitt von 4,3 Jahren untersucht. Bei 16 (4%) Patienten konnte serologisch anhand des IgM-Ak-Nachweises eine akute Infektion mit HCoV 229E festgestellt werden. Unsere HCoV 229E-Nachweisrate von Patienten im Krankenhausbereich lag hierbei im Rahmen der in bisherigen Untersuchungen aus Europa und Nordamerika angegebenen Werte von 3-4%. Das Durchschnittsalter betrug 2,4 Jahre. Eine jahreszeitliche Prävalenz zeigte sich in den Frühjahrs- und Herbstmonaten. Von diesen 16 Patienten hatten 2 Kinder eine OAW- und 14 Kinder eine UAW-Infektion. Bei 4 Patienten wurde begleitend zur HCoV 229-Infektion eine Mycoplasmen-Infektion festgestellt, 2 Patienten hatten eine schwere

Immunschwäche. Von den 10 immunkompetenten Patienten, die keine weitere assoziierte Erkrankung hatten, waren 7 Kinder  $\leq 1$  Jahr alt. Klinisch hatten alle 10 Patienten Husten, 8 Kinder eine asthmoide Symptomatik, wobei davon 2 Patienten ein bekanntes Asthma bronchiale hatten. Die Infektion verlief bei allen Patienten selbstlimitierend. Die Hälfte dieser Kinder mußte stationär behandelt werden, wobei die Dauer des stationären Aufenthalts im Durchschnitt 5-6 Tage betrug.

Bei der Untersuchung der Seroprävalenz konnte IgG-Ak gegen HCoV 229E bei 129/370 Patienten (35%) festgestellt werden. Hierbei bestand mit Ausnahme der Kinder von 0-6 Monate eine mit zunehmendem Alter ansteigende HCoV 229E-IgG-Ak-Nachweisrate.

Zusammenfassend konnte somit in dieser Studie gezeigt werden, daß HCoV 229E vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern zu klinisch relevanten akuten AW-Infektionen mit Beteiligung der unteren Atemwege führt. Die Krankheitsbilder erforderten hierbei aufgrund der Schwere des Verlaufs in ca. der Hälfte der Fälle eine stationäre Behandlung. Vor allem spastische Symptome der Atemwege waren bei HCoV-Infektionen häufig zu beobachten. So belegen unsere Untersuchungen, daß HCoV 229E sowohl eine primäre asthmoide Symptomatik bei Kindern provozieren, als auch Exazerbationen eines bereits bestehenden Asthma bronchiale herbeiführen kann. Die Virulenz von HCoV 229E darf dennoch als insgesamt niedrig eingeschätzt werden, da die relativ geringe Nachweisrate von 4% an akuten HCoV 229E-Infektionen der hohen Durchseuchungsrate von HCoV 229E entgegensteht.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Abman SH, Ogle JW, Butler-Simon N, Rumack CM, Accurso FJ.  
Role of respiratory syncytial virus in early hospitalizations for respiratory distress of young infants with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1988 Nov;113(5):826-30.
2. Afzelius BA.  
Ultrastructure of human nasal epithelium during an episode of coronavirus infection. *Virchows Arch.* 1994;424(3):295-300.
3. Aho LS, Simon I, Bour JB, Morales-Gineste L, Pothier P, Gouyon JB.  
Epidemiology of viral nosocomial infections in pediatrics. *Pathol Biol (Paris).* 2000 Dec;48(10):885-92.
4. Ahn KM, Chung SH, Chung EH, Koh YJ, Nam SY, Kim JH, Son JA, Park JY, Lee NY, Lee SI.  
Clinical characteristics of acute viral lower respiratory tract infections in hospitalized children in Seoul, 1996-1998. *J Korean Med Sci.* 1999 Aug;14(4):405-11.
5. Akerlund A, Greiff L, Andersson M, Bende M, Alkner U, Persson CG.  
Mucosal exudation of fibrinogen in coronavirus-induced common colds. *Acta Otolaryngol.* 1993 Sep;113(5):642-8.
6. al-Hajjar S, Akhter J, al Jumaah S, Hussain Qadri SM.  
Respiratory viruses in children attending a major referral centre in Saudi Arabia. *Ann Trop Paediatr.* 1998 Jun;18(2):87-92.
7. Appenzeller C, Ammann RA, Duppenhaler A, Gorgievski-Hrisoho M, Aebi C.  
Serum C-reactive protein in children with adenovirus infection. *Swiss Med Wkly.* 2002 Jun 29;132(25-26):345-50.
8. Arbour N, Ekande S, Cote G, Lachance C, Chagnon F, Tardieu M, Cashman NR, Talbot PJ.  
Persistent infection of human oligodendrocytic and neuroglial cell lines by human coronavirus 229E. *J Virol.* 1999 Apr;73(4):3326-37.
9. Arbour N, Cote G, Lachance C, Tardieu M, Cashman NR, Talbot PJ.  
Acute and persistent infection of human neural cell lines by human coronavirus OC43. *J Virol.* 1999 Apr;73(4):3338-50.
10. Arbour N, Day R, Newcombe J, Talbot PJ.  
Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses. *J Virol.* 2000 Oct;74(19):8913-21.
11. Armstrong D, Grimwood K, Carlin JB, Carzino R, Hull J, Olinsky A, Phelan PD.  
Severe viral respiratory infections in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1998 Dec;26(6):371-9.
12. Arruda E, Pitkaranta A, Witek TJ Jr, Doyle CA, Hayden FG.  
Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn. *J Clin Microbiol.* 1997 Nov;35(11):2864-8.
13. Baum SG  
Adenovirus. In Mandell GL, Benett JE, Dolin, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4<sup>th</sup> edition, Vol.2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995: 1382-1387
14. Bende M, Barrow I, Heptonstall J, Higgins PG, Al-Nakib W, Tyrrell DA, Akerlund A.  
Changes in human nasal mucosa during experimental coronavirus common colds. *Acta Otolaryngol.* 1989 Mar-Apr;107(3-4):262-9.
15. Berman S.  
Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. *Rev Infect Dis.* 1991 May-Jun;13 Suppl 6:S454-62.
16. Berner R, Schwoerer F, Schumacher RF, Meder M, Forster J.  
Community and nosocomially acquired respiratory syncytial virus infection in a German paediatric hospital from 1988 to 1999. *Eur J Pediatr.* 2001 Sep;160(9):541-7.
17. Boeck KD.  
Respiratory syncytial virus bronchiolitis: clinical aspects and epidemiology. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1996 Jun;51(3):210-3.
18. Bradburne AF, Bynoe ML, Tyrrell DA.  
Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. *Br Med J.* 1967 Sep 23;3(568):767-9.
19. Bradburne AF.  
Antigenic relationships amongst coronaviruses. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1970;31(3):352-64.

20. Bradburne AF, Somerset BA.  
Coronavirus antibody titres in sera of healthy adults and experimentally infected volunteers.  
J Hyg (Lond). 1972 Jun;70(2):235-44.
21. Braun R  
Mikrobiologie für den Kliniker: Infektionen Respirationstrakt; 1999; Interbetadresse:  
[www.labor.ch/buch/dokus/infektion\\_respirationstrakt.pdf](http://www.labor.ch/buch/dokus/infektion_respirationstrakt.pdf)
22. Busse WW, Gern JE, Dick EC.  
The role of respiratory viruses in asthma.  
Ciba Found Symp. 1997;206:208-13; discussion 213-9.
23. Callow KA.  
Effect of specific humoral immunity and some non-specific factors on resistance of volunteers to respiratory coronavirus infection. J Hyg (Lond). 1985 Aug;95(1):173-89.
24. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA.  
The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man.  
Epidemiol Infect. 1990 Oct;105(2):435-46.
25. Campbell H.  
Acute respiratory infection: a global challenge.  
Arch Dis Child. 1995 Oct;73(4):281-3.
26. Carlsen KH, Orstavik I, Halvorsen K.  
Viral infections of the respiratory tract in hospitalized children. A study from Oslo during a 90 months' period. Acta Paediatr Scand. 1983 Jan;72(1):53-8.
27. Cavallaro JJ, Monto AS.  
Community-wide outbreak of infection with a 229E-like coronavirus in Tecumseh, Michigan.  
J Infect Dis. 1970 Oct;122(4):272-9.
28. Cavanagh D, Brian DA, Brinton MA, Enjuanes L, Holmes KV, Horzinek MC, Lai MM, Laude H, Plagemann PG, Siddell SG, et al.  
The Coronaviridae now comprises two genera, coronavirus and torovirus: report of the Coronaviridae Study Group. Adv Exp Med Biol. 1993;342:255-7.
29. CDC  
Center for Disease Control and Prevention, Severe Acute Respiratory Syndrom  
[www.cdc.gov/ncidod/sars/](http://www.cdc.gov/ncidod/sars/)
30. Cereda PM, Pagani L, Romero E.  
Prevalence of antibody to human coronaviruses 229E, OC43 and neonatal calf diarrhea coronavirus (NCD CV) in patients of Northern Italy. Eur J Epidemiol. 1986 Jun;2(2):112-7.
31. Chang KW, Sheng Y, Gombold JL.  
Coronavirus-induced membrane fusion requires the cysteine-rich domain in the spike protein.  
Virology. 2000 Mar 30;269(1):212-24.
32. Chapman RS, Henderson FW, Clyde WA Jr, Collier AM, Denny FW.  
The epidemiology of tracheobronchitis in pediatric practice.  
Am J Epidemiol. 1981 Dec;114(6):786-97.
33. Cherian T, Simoes EA, Steinhoff MC, Chitra K, John M, Raghupathy P, John TJ.  
Bronchiolitis in tropical south India.  
Am J Dis Child. 1990 Sep;144(9):1026-30.
34. Chew FT, Doraisingham S, Ling AE, Kumarasinghe G, Lee BW.  
Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics.  
Epidemiol Infect. 1998 Aug;121(1):121-8.
35. Chilvers MA, McKean M, Rutman A, Myint BS, Silverman M, O'Callaghan C.  
The effects of coronavirus on human nasal ciliated respiratory epithelium.  
Eur Respir J. 2001 Dec;18(6):965-70.
36. Chiu NC, Huang FY.  
Adenoviral pneumonia in children.  
Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi. 1992 Mar-Apr;33(2):112-8.
37. Cohen S, Tyrrell DA, Smith AP.  
Psychological stress and susceptibility to the common cold.  
N Engl J Med. 1991 Aug 29;325(9):606-12.
38. Couch RB, Englund JA, Whimbey E.  
Respiratory viral infections in immunocompetent and immunocompromised persons.  
Am J Med. 1997 Mar 17;102(3A):2-9; discussion 25-6.
39. Chuang YY, Chiu CH, Wong KS, Huang JG, Huang YC, Chang LY, Lin TY.  
Severe adenovirus infection in children.  
J Microbiol Immunol Infect. 2003 Mar;36(1):37-40.

40. de Haan CA, Kuo L, Masters PS, Vennema H, Rottier PJ.  
Coronavirus particle assembly: primary structure requirements of the membrane protein.  
J Virol. 1998 Aug;72(8):6838-50.
41. de Haan CA, Smeets M, Vernooij F, Vennema H, Rottier PJ.  
Mapping of the coronavirus membrane protein domains involved in interaction with the spike protein. J Virol. 1999 Sep;73(9):7441-52.
42. de Haan CA, Vennema H, Rottier PJ.  
Assembly of the coronavirus envelope: homotypic interactions between the M proteins.  
J Virol. 2000 Jun;74(11):4967-78.
43. Delacourt C.  
From bronchiolitis to asthma  
Arch Pediatr. 2002 Aug;9 Suppl 3:372s-376s.
44. Denny FW  
Acute respiratory infections: the forgotten pandemic. Bull World Health Organ. 1998;76(1):101-3, 105-7.  
English, French.Erratum in: Bull World Health Organ 1998;76(3):317.
45. Denny FW, Clyde WA Jr.  
Acute lower respiratory tract infections in nonhospitalized children.  
J Pediatr. 1986 May;108(5 Pt 1):635-46.
46. Denny FW, Loda FA.  
Acute respiratory infections are the leading cause of death in children in developing countries.  
Am J Trop Med Hyg. 1986 Jan;35(1):1-2.
47. Denny FW Jr.  
The clinical impact of human respiratory virus infections.  
Am J Respir Crit Care Med. 1995 Oct;152(4 Pt 2):S4-12.
48. Dessau RB, Lisby G, Frederiksen JL.  
Coronaviruses in brain tissue from patients with multiple sclerosis.  
Acta Neuropathol (Berl). 2001 Jun;101(6):601-4.
49. De Silva LM, Hanlon MG.  
Respiratory syncytial virus: a report of a 5-year study at a children's hospital.  
J Med Virol. 1986 Aug;19(4):299-305.
50. Domachowske JB, Rosenberg HF.  
Respiratory syncytial virus infection: immune response, immunopathogenesis, and treatment.  
Clin Microbiol Rev. 1999 Apr;12(2):298-309.
51. Donati D, Cellesi C, Rossolini A, Lorusso V, Moschetti D, Amato T, Valensin PE.  
Serological diagnosis of respiratory viral infections. A five-year study of hospitalised patients.  
New Microbiol. 1998 Oct;21(4):365-74.
52. Drews AL, Atmar RL, Glezen WP, Baxter BD, Piedra PA, Greenberg SB.  
Dual respiratory virus infections.  
Clin Infect Dis. 1997 Dec;25(6):1421-9.
53. Eccles R.  
An explanation for the seasonality of acute upper respiratory tract viral infections.  
Acta Otolaryngol. 2002 Mar;122(2):183-91.
54. Edwards KM, Thompson J, Paolini J, Wright PF.  
Adenovirus infections in young children.  
Pediatrics. 1985 Sep;76(3):420-4.
55. Edwards JA, Denis F, Talbot PJ.  
Activation of glial cells by human coronavirus OC43 infection.  
J Neuroimmunol. 2000 Aug 1;108(1-2):73-81.
56. Ekalaksananan T, Pientong C, Kongyingoes B, Pairojikul S, Teeratakulpisarn J, Heng S.  
Etiology of acute lower respiratory tract infection in children at Srinagarind Hospital, Khon Kaen, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001 Sep;32(3):513-9.
57. El-Sahly HM, Atmar RL, Glezen WP, Greenberg SB.  
Spectrum of clinical illness in hospitalized patients with "common cold" virus infections.  
Clin Infect Dis. 2000 Jul;31(1):96-100.
58. Englund J, Glezen WP, Piedra PA.  
Maternal immunization against viral disease.  
Vaccine. 1998 Aug-Sep;16(14-15):1456-63.
59. Falsey AR, McCann RM, Hall WJ, Tanner MA, Criddle MM, Formica MA, Irvine CS, Kolassa JE, Barker WH, Treanor JJ.  
Acute respiratory tract infection in daycare centers for older persons.  
J Am Geriatr Soc. 1995 Jan;43(1):30-6.

60. Falsey AR, McCann RM, Hall WJ, Criddle MM, Formica MA, Wycoff D, Kolassa JE.  
The "common cold" in frail older persons: impact of rhinovirus and coronavirus in a senior daycare center.  
J Am Geriatr Soc. 1997 Jun;45(6):706-11.
61. Falsey AR, Walsh EE, Hayden FG.  
Rhinovirus and coronavirus infection-associated hospitalizations among older adults.  
J Infect Dis. 2002 May 1;185(9):1338-41. Epub 2002 Apr 16.
62. Fan J, Henrickson KJ, Savatski LL.  
Rapid simultaneous diagnosis of infections with respiratory syncytial viruses A and B, influenza viruses A and B, and human parainfluenza virus types 1, 2, and 3 by multiplex quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction-enzyme hybridization assay (Hexaplex). Clin Infect Dis. 1998 Jun;26(6):1397-402.
63. Fang LQ, Zhang PH, Yang BA, Wu XM, Zhao QM, Liu W, Liu H, Deng YQ, Zhan L, Han WG, Lu FS, Wu JS, Yang H, Zhu QY, Cao WC.  
The application of indirect immuno-fluorescence assay in the diagnosis of severe acute respiratory syndrome. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2003 Jun;24(6):484-6.
64. Farnig KT, Wu KG, Lee YS, Lin YH, Hwang BT.  
Comparison of clinical characteristics of adenovirus and non-adenovirus pneumonia in children.  
J Microbiol Immunol Infect. 2002 Mar;35(1):37-41.
65. Flores P, Rebelo-de-Andrade H, Goncalves P, Guiomar R, Carvalho C, Sousa EN, Noronha FT, Palminha JM.  
Bronchiolitis caused by respiratory syncytial virus in an area of Portugal: epidemiology, clinical features, and risk factors. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004 Jan;23(1):39-45.
66. Folkerts G, Busse WW, Nijkamp FP, Sorkness R, Gern JE. (a)  
Virus-induced airway hyperresponsiveness and asthma.  
Am J Respir Crit Care Med. 1998 Jun;157(6 Pt 1):1708-20.
67. Folkerts G, Nijkamp FP. (b)  
Airway epithelium: more than just a barrier!  
Trends Pharmacol Sci. 1998 Aug;19(8):334-41.
68. Folz RJ, Elkordy MA.  
Coronavirus pneumonia following autologous bone marrow transplantation for breast cancer.  
Chest. 1999 Mar;115(3):901-5.
69. Freymuth F, Vabret A, Galateau-Salle F, Ferey J, Eugene G, Petitjean J, Gennetay E, Brouard J, Jokik M, Duhamel JF, Guillois B.  
Detection of respiratory syncytial virus, parainfluenzavirus 3, adenovirus and rhinovirus sequences in respiratory tract of infants by polymerase chain reaction and hybridization. Clin Diagn Virol. 1997 May;8(1):31-40.
70. Freymuth F, Vabret A, Brouard J, Toutain F, Verdon R, Petitjean J, Gouarin S, Duhamel JF, Guillois B.  
Detection of viral, Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae infections in exacerbations of asthma in children. J Clin Virol. 1999 Aug;13(3):131-9.
71. Freymuth F, Vabret A, Gouarin S, Petitjean J, Campet M.  
Epidemiology of respiratory virus infections.  
Allerg Immunol (Paris). 2001 Feb;33(2):66-9.
72. Gallagher TM, Buchmeier MJ.  
Coronavirus spike proteins in viral entry and pathogenesis.  
Virology. 2001 Jan 20;279(2):371-4.
73. Garcia Garcia ML, Ordobas Gabin M, Calvo Reya C, Gonzalez Alvarez M, Aguilar Ruiz J, Arregui Sierra A, Perez Brena P.  
Viral infection of the lower respiratory tract in hospitalized infants: etiology, clinical features and risk factors. An Esp Pediatr. 2001 Aug;55(2):101-7.
74. Gern JE, Galagan DM, Jarjour NN, Dick EC, Busse WW.  
Detection of rhinovirus RNA in lower airway cells during experimentally induced infection.  
Am J Respir Crit Care Med. 1997 Mar;155(3):1159-61.
75. Gern JE, Busse WW.  
Association of rhinovirus infections with asthma.  
Clin Microbiol Rev. 1999 Jan;12(1):9-18.
76. Gern JE, Busse WW.  
The role of viral infections in the natural history of asthma.  
J Allergy Clin Immunol. 2000 Aug;106(2):201-12.
77. Gern JE.  
Viral and bacterial infections in the development and progression of asthma.  
J Allergy Clin Immunol. 2000 Feb;105(2 Pt 2):S497-502.

78. Gerth HJ.  
Infections of the respiratory tract. Early virological diagnosis.  
MMW Munch Med Wochenschr. 1983 Nov 18;125(46):1057-8.
79. Giudicelli J, Dubois F, Thouvenot D, Dutruge J, Bellon G.  
Coronavirus infection in infants: lower respiratory tract involvement, apnea and sudden death?  
Arch Pediatr. 1995 Feb;2(2):185.
80. Glezen WP, Alpers M.  
Maternal immunization.  
Clin Infect Dis. 1999 Feb;28(2):219-24.
81. Glezen WP, Greenberg SB, Atmar RL, Piedra PA, Couch RB.  
Impact of respiratory virus infections on persons with chronic underlying conditions.  
JAMA. 2000 Jan 26;283(4):499-505.
82. Godeke GJ, de Haan CA, Rossen JW, Vennema H, Rottier PJ.  
Assembly of spikes into coronavirus particles is mediated by the carboxy-terminal domain of the spike protein. J Virol. 2000 Feb;74(3):1566-71.
83. Gorbunov SG, Gorelov AV, Kosorotikova AI.  
Etiological structure of acute respiratory viral infections in children hospitalized in 1981-1999.  
Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2001 Nov-Dec(6):25-7.
84. Greenberg SB, Allen M, Wilson J, Atmar RL.  
Respiratory viral infections in adults with and without chronic obstructive pulmonary disease.  
Am J Respir Crit Care Med. 2000 Jul;162(1):167-73.
85. Greiff L, Andersson M, Akerlund A, Wollmer P, Svensson C, Alkner U, Persson CG.  
Microvascular exudative hyperresponsiveness in human coronavirus-induced common cold.  
Thorax. 1994 Feb;49(2):121-7.
86. Grondahl B, Puppe W, Hoppe A, Kuhne I, Weigl JA, Schmitt HJ.  
Rapid identification of nine microorganisms causing acute respiratory tract infections by single-tube multiplex reverse transcription-PCR: feasibility study. J Clin Microbiol. 1999 Jan;37(1):1-7.
87. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, Luo SW, Li PH, Zhang LJ, Guan YJ, Butt KM, Wong KL, Chan KW, Lim W, Shortridge KF, Yuen KY, Peiris JS, Poon LL.  
Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China.  
Science. 2003 Oct 10;302(5643):276-8. Epub 2003 Sep 04.
88. Günzburg WH  
Allgemeine Virologie, Geschichte der Virologie; Institut für Virologie, Veterinärmedizinische Universität Wien; Internet: [www.vu-wien.ac.at/i123/allgemeininfo.html](http://www.vu-wien.ac.at/i123/allgemeininfo.html)
89. Hamre D, Beem M.  
Virologic studies of acute respiratory disease in young adults. V. Coronavirus 229E infections during six years of surveillance. Am J Epidemiol. 1972; 96:94-106.
90. Han BK, Son JA, Yoon HK, Lee SI.  
Epidemic adenoviral lower respiratory tract infection in pediatric patients: radiographic and clinical characteristics. AJR Am J Roentgenol. 1998 Apr;170(4):1077-80.
91. Hassler D, Braun R, Doerr HW.  
Kawasaki syndrome: a coronavirus infection? Dtsch Med Wochenschr. 2005 Feb 18;130(7):320
92. Hasony HJ, Macnaughton MR.  
Prevalence of human coronavirus antibody in the population of southern Iraq.  
J Med Virol. 1982;9(3):209-16.
93. Heinz F, Chobot S, Januska J, Strizova V, Fedova D.  
Acute viral respiratory diseases as a cause of work disability in miners during an inter-epidemic period.  
Cesk Epidemiol Mikrobiol Imunol. 1989 Jul;38(4):209-12.
94. Hendley JO, Fishburne HB, Gwaltney JM Jr.  
Coronavirus infections in working adults. Eight-year study with 229 E and OC 43.  
Am Rev Respir Dis. 1972 May;105(5):805-11.
95. Henrickson KJ.  
Lower respiratory viral infections in immunocompetent children.  
Adv Pediatr Infect Dis. 1994;9:59-96.
96. Henrickson KJ.  
Parainfluenza viruses.  
Clin Microbiol Rev. 2003 Apr;16(2):242-64.
97. Hierholzer JC.  
Adenoviruses in the immunocompromised host.  
Clin Microbiol Rev. 1992 Jul;5(3):262-74.

98. Holmes KV, Lai MMC  
Coronaviridae: the viruses and their replication, p. 1075-1093. In B. N. Fields, D. M. Knipe, and P. M. Howley (ed.), *Fields virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa. 1996.
99. Hordvik NL, Konig P, Hamory B, Cooperstock M, Kreutz C, Gayer D, Barbero G.  
Effects of acute viral respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis.  
*Pediatr Pulmonol.* 1989;7(4):217-22.
100. Hovi T, Kainulainen H, Ziola B, Salmi A.  
OC43 strain-related coronavirus antibodies in different age groups.  
*J Med Virol.* 1979;3(4):313-20.
101. Hruskova J, Heinz F, Pennigerova S, Hnikova O.  
Acute respiratory disease caused by coronaviruses.  
*Cas Lek Cesk.* 1989 Mar 24;128(13):396-8.
102. Hruskova J, Heinz F, Svandova E, Pennigerova S.  
Antibodies to human coronaviruses 229E and OC43 in the population of C.R.  
*Acta Virol.* 1990 Aug;34(4):346-52.
103. Huang JJ, Huang TY, Huang MY, Chen BH, Lin KH, Jeng JE, Wu JR, Dai ZK.  
Simultaneous multiple viral infections in childhood acute lower respiratory tract infections in southern Taiwan. *J Trop Pediatr.* 1998 Oct;44(5):308-11.
104. Huang YC, Lin TY, Chang LY, Wong KS, Ning SC.  
Epidemiology of respiratory syncytial virus infection among paediatric inpatients in northern Taiwan. *Eur J Pediatr.* 2001 Sep;160(9):581-2.
105. Igarashi Y, Skoner DP, Doyle WJ, White MV, Fireman P, Kaliner MA.  
Analysis of nasal secretions during experimental rhinovirus upper respiratory infections.  
*J Allergy Clin Immunol.* 1993 Nov;92(5):722-31.
106. Ijaz MK, Brunner AH, Sattar SA, Nair RC, Johnson-Lussenburg CM.  
Survival characteristics of airborne human coronavirus 229E.  
*J Gen Virol.* 1985 Dec;66 ( Pt 12):2743-8.
107. Isaacs D, Flowers D, Clarke JR, Valman HB, MacNaughton MR.  
Epidemiology of coronavirus respiratory infections.  
*Arch Dis Child.* 1983 Jul;58(7):500-3.
108. Jackson GG, Muldoon RL.  
Viruses causing common respiratory infections in man.  
*J Infect Dis.* 1973 Mar;127(3):328-55.
109. Jeong YS, Makino S.  
Evidence for coronavirus discontinuous transcription.  
*J Virol.* 1994 Apr;68(4):2615-23.
110. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, Symington P, O'Toole S, Myint SH, Tyrrell DA.  
Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children.  
*BMJ.* 1995 May 13;310(6989):1225-9.
111. Johnston S, Holgate S  
Epidemiology of viral respiratory tract infections, p. 1-38 In: *Viral and other Infections of the human respiratory tract*. Edited by Myint S and Taylor-Robinson D. Published in 1996 by Chapman&Hall
112. Juntunen A, Herrgard E, Mannonen L, Korppi M, Linnavuori K, Vaheri A, Koskiniemi M.  
A major role of viruses in convulsive status epilepticus in children: a prospective study of 22 children.  
*Eur J Pediatr.* 2001 Jan;160(1):37-42.
113. Kaiser L, Couch RB, Galasso GJ, Glezen WP, Webster RG, Wright PF, Hayden FG.  
First International Symposium on Influenza and Other Respiratory Viruses: summary and overview: Kapalua, Maui, Hawaii, December 4-6, 1998. *Antiviral Res.* 1999 Jul;42(3):149-75.
114. Kaye HS, Dowdle WR.  
Seroepidemiologic survey of coronavirus (strain 229E) infections in a population of children.  
*Am J Epidemiol.* 1975 Mar;101(3):238-44.
115. Kellner G, Popow-Kraupp T, Popow C, Kundi M, Kunz C.  
Surveillance of viral respiratory tract infections over a one year period in mainly hospitalized Austrian infants and children by a rapid enzyme-linked immunosorbent assay diagnosis. *Wien Klin Wochenschr.* 1990 Feb 16;102(4):100-6.
116. Kim MR, Lee HR, Lee GM.  
Epidemiology of acute viral respiratory tract infections in Korean children.  
*J Infect.* 2000 Sep;41(2):152-8.
117. Kimpen JL.  
Viral infections and childhood asthma.  
*Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Sep;162(3 Pt 2):S108-12.



118. Klumperman J, Locker JK, Meijer A, Horzinek MC, Geuze HJ, Rottier PJ.  
Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding.  
J Virol. 1994 Oct;68(10):6523-34.
119. Kraaijeveld CA, Reed SE, Macnaughton MR.  
Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody in volunteers experimentally infected with human coronavirus strain 229 E. J Clin Microbiol. 1980 Oct;12(4):493-7.
120. Kuljic-Kapulica N, Budisin A.  
Coronaviruses.  
Srp Arh Celok Lek. 1992 Jul-Aug;120(7-8):215-8.
121. Lai MM.  
RNA-protein interactions in the regulation of coronavirus RNA replication and transcription.  
Biol Chem. 1997 Jun;378(6):477-81.
122. Lai MM, Cavanagh D.  
The molecular biology of coronaviruses.  
Adv Virus Res. 1997;48:1-100.
123. Lanari M, Giovannini M, Giuffrè L, Marini A, Rondini G, Rossi GA, Merolla R, Zuccotti GV, Salvioli GP; Investigators R.A.DA.R. Study Group.  
Prevalence of respiratory syncytial virus infection in Italian infants hospitalized for acute lower respiratory tract infections, and association between respiratory syncytial virus infection risk factors and disease severity. Pediatr Pulmonol. 2002 Jun;33(6):458-65.
124. Larson HE, Reed SE, Tyrrell DA.  
Isolation of rhinoviruses and coronaviruses from 38 colds in adults.  
J Med Virol. 1980;5(3):221-9.
125. Laurichesse H, Dedman D, Watson JM, Zambon MC.  
Epidemiological features of parainfluenza virus infections: laboratory surveillance in England and Wales, 1975-1997. Eur J Epidemiol. 1999 May;15(5):475-84.
126. Lehel F, Madar Z, Toth I.  
Antibodies to Coronavirus OC 43 strain in the population of North-Eastern Hungary.  
Acta Microbiol Hung. 1983;30(2):163-6.
127. Lichenstein R, King JC Jr, Lovchik J, Keane V.  
Respiratory viral infections in hospitalized children: implications for infection control.  
South Med J. 2002 Sep;95(9):1022-5.
128. Lim KP, Liu DX.  
The missing link in coronavirus assembly. Retention of the avian coronavirus infectious bronchitis virus envelope protein in the pre-Golgi compartments and physical interaction between the envelope and membrane proteins. J Biol Chem. 2001 May 18;276(20):17515-23.
129. Lina B, Valette M, Foray S, Luciani J, Stagnara J, See DM, Aymard M.  
Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995. J Clin Microbiol. 1996 Dec;34(12):3007-11.
130. Lindemann H  
Pneumonie/Pneumonitis (Alveolitis) im Kindesalter; Pädiatrische Pneumologie und Allergologie; Justus-Liebig Universität Giessen; Internet:  
[www.uniklinikum-giessen.de/pneumologie/Pneumonie\\_Pneumonitis\\_Alveolitis.html](http://www.uniklinikum-giessen.de/pneumologie/Pneumonie_Pneumonitis_Alveolitis.html)
131. Macek V, Dakhama A, Hogg JC, Green FH, Rubin BK, Hegele RG.  
PCR detection of viral nucleic acid in fatal asthma: is the lower respiratory tract a reservoir for common viruses? Can Respir J. 1999 Jan-Feb;6(1):37-43.
132. Macnaughton MR, Madge MH.  
The genome of human coronavirus strain 229E.  
J Gen Virol. 1978 Jun;39(3):497-504.
133. Macnaughton MR, Thomas BJ, Davies HA, Patterson S.  
Infectivity of human coronavirus strain 229E.  
J Clin Microbiol. 1980 Sep;12(3):462-8.
134. Macnaughton MR, Hasony HJ, Madge MH, Reed SE.  
Antibody to virus components in volunteers experimentally infected with human coronavirus 229E group viruses. Infect Immun. 1981 Mar;31(3):845-9.
135. Macnaughton MR.  
Occurrence and frequency of coronavirus infections in humans as determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Infect Immun. 1982 Nov;38(2):419-23.
136. Macnaughton MR, Flowers D, Isaacs D.  
Diagnosis of human coronavirus infections in children using enzyme-linked immunosorbent assay.  
J Med Virol. 1983;11(4):319-25.

137. Mackie PL.  
The classification of viruses infecting the respiratory tract.  
Paediatr Respir Rev. 2003 Jun;4(2):84-90.
138. Maeda J, Repass JF, Maeda A, Makino S.  
Membrane topology of coronavirus E protein.  
Virology. 2001 Mar 15;281(2):163-9.
139. Maitreyi RS, Broor S, Kabra SK, Ghosh M, Seth P, Dar L, Prasad AK.  
Rapid detection of respiratory viruses by centrifugation enhanced cultures from children with acute lower respiratory tract infections. J Clin Virol. 2000 Feb;16(1):41-7.
140. Makela MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimaki M, Blomqvist S, Hyypia T, Arstila P.  
Viruses and bacteria in the etiology of the common cold.  
J Clin Microbiol. 1998 Feb;36(2):539-42.
141. Marin J, Jeler-Kacar D, Levstek V, Macek V.  
Persistence of viruses in upper respiratory tract of children with asthma.  
J Infect. 2000 Jul;41(1):69-72.
142. Martinez FD.  
Respiratory syncytial virus bronchiolitis and the pathogenesis of childhood asthma.  
Pediatr Infect Dis J. 2003 Feb;22(2 Suppl):S76-82.
143. Mathur A, Arora KL, Rajvanshi S, Chaturvedi UC.  
Coronavirus in respiratory infection.  
Indian J Med Res. 1982 Mar;75:323-8.
144. Matsumoto I, Yoshida S, Takahashi K, Kawana R.  
Virological surveillance of acute respiratory tract illnesses of children in Morioka, Japan. I. Epidemiological patterns of infection with respiratory viruses over a 10-year period. Kansenshogaku Zasshi. 1991 Apr;65(4):423-32.
145. Matsumoto I, Kawana R.  
Virological surveillance of acute respiratory tract illnesses of children in Morioka, Japan. III. Human respiratory coronavirus. Kansenshogaku Zasshi. 1992 Mar;66(3):319-26.
146. McConnochie KM, Roghmann KJ.  
Bronchiolitis as a possible cause of wheezing in childhood: new evidence.  
Pediatrics. 1984 Jul;74(1):1-10.
147. McCracken GH Jr.  
Etiology and treatment of pneumonia.  
Pediatr Infect Dis J. 2000 Apr;19(4):373-7.
148. McIntosh K, Kapikian AZ, Turner HC, Hartley JW, Parrott RH, Chanock RM.  
Seroepidemiologic studies of coronavirus infection in adults and children.  
Am J Epidemiol. 1970 Jun;91(6):585-92.
149. McIntosh K, Chao RK, Krause HE, Wasil R, Mocega HE, Mufson MA.  
Coronavirus infection in acute lower respiratory tract disease of infants.  
J Infect Dis. 1974 Nov;130(5):502-7.
150. McIntosh K, McQuillin J, Reed SE, Gardner PS.  
Diagnosis of human coronavirus infection by immunofluorescence: method and application to respiratory disease in hospitalized children. J Med Virol. 1978;2(4):341-6.
151. McIntosh K, Halonen P, Ruuskanen O.  
Report of a workshop on respiratory viral infections: epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention.  
Clin Infect Dis. 1993 Jan;16(1):151-64.
152. McIntosh K  
Coronaviruses, p. 1095-1103. In B. N. Fields, D. M. Knipe, and P. M. Howley (ed.), Fields virology, 3rd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa. 1996.
153. Megdam MM, Nasrallah G, al-Shurman A.  
Detection of adenovirus infection in children in Jordan.  
Ann Trop Paediatr. 2001 Mar;21(1):59-65.
154. Montalbano MM, Lemanske RF Jr.  
Infections and asthma in children.  
Curr Opin Pediatr. 2002 Jun;14(3):334-7.
155. Monto AS, Lim SK.  
The Tecumseh study of respiratory illness. VI. Frequency of and relationship between outbreaks of coronavirus infection. J Infect Dis. 1974 Mar;129(3):271-6.
156. Monto AS, Rhodes LM.  
Detection of coronavirus infection of man by immunofluorescence.  
Proc Soc Exp Biol Med. 1977 Jun;155(2):143-8.

157. Monto AS, Sullivan KM.  
Acute respiratory illness in the community. Frequency of illness and the agents involved.  
*Epidemiol Infect.* 1993 Feb;110(1):145-60.
158. Monto AS.  
Studies of the community and family: acute respiratory illness and infection.  
*Epidemiol Rev.* 1994;16(2):351-73.
159. Monto AS.  
Epidemiology of respiratory viruses in persons with and without asthma and COPD.  
*Am J Respir Crit Care Med.* 1995 May;151(5):1653-7; discussion 1657-8.
160. Murphy TF, Henderson FW, Clyde WA Jr, Collier AM, Denny FW.  
Pneumonia: an eleven-year study in a pediatric practice.  
*Am J Epidemiol.* 1981 Jan;113(1):12-21.
161. Narayanan K, Maeda A, Maeda J, Makino S.  
Characterization of the coronavirus M protein and nucleocapsid interaction in infected cells.  
*J Virol.* 2000 Sep;74(17):8127-34.
162. Narayanan K, Makino S.  
Cooperation of an RNA packaging signal and a viral envelope protein in coronavirus RNA packaging. *J Virol.* 2001 Oct;75(19):9059-67.
163. Nguyen VP, Hogue BG.  
Protein interactions during coronavirus assembly.  
*J Virol.* 1997 Dec;71(12):9278-84.
164. Nguyen VP, Hogue BG.  
Coronavirus envelope glycoprotein assembly complexes.  
*Adv Exp Med Biol.* 1998;440:361-5.
165. NIAID  
National Institute of Allergy and Infectious Disease (2001b). The common cold [on-line]. Available:  
<http://www.niaid.nih.gov/factsheets/cold.htm> (10.06.2004)
166. Nicholson KG, Kent J, Ireland DC.  
Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults.  
*BMJ.* 1993 Oct 16;307(6910):982-6.
167. Nicholson KG, Kent J, Hammersley V, Cancio E.  
Acute viral infections of upper respiratory tract in elderly people living in the community: comparative, prospective, population based study of disease burden. *BMJ.* 1997 Oct 25;315(7115):1060-4.
168. Nja F, Nystad W, Hetlevik O, Lodrup Carlsen KC, Carlsen KH.  
Airway infections in infancy and the presence of allergy and asthma in school age children.  
*Arch Dis Child.* 2003 Jul;88(7):566-9.
169. Noah TL, Henderson FW, Wortman IA, Devlin RB, Handy J, Koren HS, Becker S.  
Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood.  
*J Infect Dis.* 1995 Mar;171(3):584-92.
170. Nokso-Koivisto J, Pitkaranta A, Blomqvist S, Kilpi T, Hovi T.  
Respiratory coronavirus infections in children younger than two years of age.  
*Pediatr Infect Dis J.* 2000 Feb;19(2):164-6.
171. Osiowy C.  
Direct detection of respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and adenovirus in clinical respiratory specimens by a multiplex reverse transcription-PCR assay. *J Clin Microbiol.* 1998 Nov;36(11):3149-54.
172. O'Toole D, Brown I, Bridges A, Cartwright SF.  
Pathogenicity of experimental infection with 'pneumotropic' porcine coronavirus.  
*Res Vet Sci.* 1989 Jul;47(1):23-9.
173. Papadopoulos NG, Johnston SL.  
Rhinoviruses as pathogens of the lower respiratory tract.  
*Can Respir J.* 2000 Sep-Oct;7(5):409-14.
174. Phillipotts RJ.  
Clones of MRC-C cells may be superior to the parent line for the culture of 229E-like strains of human respiratory coronavirus. *J Virol Methods.* 1983 May;6(5):267-9.
175. Pichler MN, Reichenbach J, Schmidt H, Herrmann G, Zielen S.  
Severe adenovirus bronchiolitis in children.  
*Acta Paediatr.* 2000 Nov;89(11):1387-9.
176. Pitkaranta A, Virolainen A, Jero J, Arruda E, Hayden FG.  
Detection of rhinovirus, respiratory syncytial virus, and coronavirus infections in acute otitis media by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Pediatrics.* 1998 Aug;102(2 Pt 1):291-5.

177. Pizzichini MM, Pizzichini E, Efthimiadis A, Chauhan AJ, Johnston SL, Hussack P, Mahony J, Dolovich J, Hargreave FE.  
Asthma and natural colds. Inflammatory indices in induced sputum: a feasibility study.  
Am J Respir Crit Care Med. 1998 Oct;158(4):1178-84.
178. Pohl-Koppe A, Raabe T, Siddell SG, ter Meulen V.  
Detection of human coronavirus 229E-specific antibodies using recombinant fusion proteins.  
J Virol Methods. 1995 Oct;55(2):175-83. Erratum in: J Virol Methods 1996 Jan;56(1):123.
179. Rabella N, Rodriguez P, Labeaga R, Otegui M, Mercader M, Gurgui M, Prats G.  
Conventional respiratory viruses recovered from immunocompromised patients: clinical considerations.  
Clin Infect Dis. 1999 May;28(5):1043-8.
180. Ray CG, Holberg CJ, Minnich LL, Shehab ZM, Wright AL, Taussig LM.  
Acute lower respiratory illnesses during the first three years of life: potential roles for various etiologic agents. The Group Health Medical Associates. Pediatr Infect Dis J. 1993 Jan;12(1):10-4.
181. Ray R, Matsuoka Y, Burnett TL, Glaze BJ, Compans RW.  
Human parainfluenza virus induces a type-specific protective immune response.  
J Infect Dis. 1990 Sep;162(3):746-9.
182. Reed SE.  
The behaviour of recent isolates of human respiratory coronavirus in vitro and in volunteers: evidence of heterogeneity among 229E-related strains. J Med Virol. 1984;13(2):179-92.
183. Riski H, Hovi T.  
Coronavirus infections of man associated with diseases other than the common cold.  
J Med Virol. 1980;6(3):259-65.
184. Rohde G, Wiethege A, Borg I, Kauth M, Bauer TT, Gillissen A, Bufe A, Schultze-Werninghaus G.  
Respiratory viruses in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease requiring hospitalisation: a case-control study. Thorax. 2003 Jan;58(1):37-42.
185. Russell WC  
Adenoviruses, p.281-290, Vol.1. In: Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 9<sup>th</sup> edition, Collier L, Balows A, Sussmann M (ed.). Arnold, London (1998)
186. Ruuskanen O, Ogra PL.  
Respiratory syncytial virus.  
Curr Probl Pediatr. 1993 Feb;23(2):50-79.
187. Sakaguchi AY, Shows TB.  
Coronavirus 229E susceptibility in man-mouse hybrids is located on human chromosome 15.  
Somatic Cell Genet. 1982 Jan;8(1):83-94.
188. Schmidt OW, Kenny GE.  
Polypeptides and functions of antigens from human coronaviruses 229E and OC43.  
Infect Immun. 1982 Feb;35(2):515-22.
189. Schmidt OW, Allan ID, Cooney MK, Foy HM, Fox JP.  
Rises in titers of antibody to human coronaviruses OC43 and 229E in Seattle families during 1975-1979.  
Am J Epidemiol. 1986 May;123(5):862-8.
190. Schopfer K  
Institut für Infektionskrankheiten, Universität Bern; 2001; Internet:  
[www.ifik.unibe.ch/ausbildung/konzepte/3\\_jahr/KV\\_11\\_Atemwege.pdf](http://www.ifik.unibe.ch/ausbildung/konzepte/3_jahr/KV_11_Atemwege.pdf)
191. Shay DK, Holman RC, Newman RD, Liu LL, Stout JW, Anderson LJ.  
Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996.  
JAMA. 1999 Oct 20;282(15):1440-6.
192. Siddell S, Myint S  
Coronaviruses; In: Viral and other Infections of the human respiratory tract; p.141-167. Myint S, Taylor-Robinson S (ed.); published 1996 by Chapman & Hall
193. Simoes EA, Carbonell-Estrany X.  
Impact of severe disease caused by respiratory syncytial virus in children living in developed countries.  
Pediatr Infect Dis J. 2003 Feb;22(2 Suppl):S13-8; discussion S18-20.
194. Sizun J, Soupre D, Legrand MC, Giroux JD, Rubio S, Chastel C, Alix D, de Parscau L.  
Pathogen role of coronavirus in pediatric intensive care: retrospective analysis of 19 positive samples with indirect immunofluorescence. Arch Pediatr. 1994 May;1(5):477-80.
195. Sizun J, Soupre D, Legrand MC, Giroux JD, Rubio S, Cauvin JM, Chastel C, Alix D, de Parscau L.  
Neonatal nosocomial respiratory infection with coronavirus: a prospective study in a neonatal intensive care unit. Acta Paediatr. 1995 Jun;84(6):617-20.
196. Sizun J, Arbour N, Talbot PJ.  
Comparison of immunofluorescence with monoclonal antibodies and RT-PCR for the detection of human coronaviruses 229E and OC43 in cell culture. J Virol Methods. 1998 Jun;72(2):145-52.

197. Sizun J, Yu MW, Talbot PJ.  
Survival of human coronaviruses 229E and OC43 in suspension and after drying on surfaces: a possible source of hospital-acquired infections. *J Hosp Infect.* 2000 Sep;46(1):55-60.
198. Sizun J, Gagneur A, Legrand MC, Baron R.  
Respiratory coronavirus infections in children.  
*Pediatr Infect Dis J.* 2001 May;20(5):555-6.
199. Smith A, Thomas M, Whitney H.  
After-effects of the common cold on mood and performance.  
*Ergonomics.* 2000 Sep;43(9):1342-9.
200. Sonoda S, Gotoh Y, Bann F, Nakayama T.  
Acute lower respiratory infections in hospitalized children over a 6 year period in Tokyo.  
*Pediatr Int.* 1999 Oct;41(5):519-24.
201. Stohlman SA, Hinton DR.  
Viral induced demyelination.  
*Brain Pathol.* 2001 Jan;11(1):92-106.
202. Tan WC, Xiang X, Qiu D, Ng TP, Lam SF, Hegele RG.  
Epidemiology of respiratory viruses in patients hospitalized with near-fatal asthma, acute exacerbations of asthma, or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Med.* 2003 Sep;115(4):272-7.
203. Taussig LM, Wright AL, Morgan WJ, Harrison HR, Ray CG.  
The Tucson Children's Respiratory Study. I. Design and implementation of a prospective study of acute and chronic respiratory illness in children. *Am J Epidemiol.* 1989 Jun;129(6):1219-31.
204. Treanor J, Falsey A.  
Respiratory viral infections in the elderly.  
*Antiviral Res.* 1999 Dec 15;44(2):79-102.
205. Trigg CJ, Nicholson KG, Wang JH, Ireland DC, Jordan S, Duddle JM, Hamilton S, Davies RJ.  
Bronchial inflammation and the common cold: a comparison of atopic and non-atopic individuals.  
*Clin Exp Allergy.* 1996 Jun;26(6):665-76.
206. Tsai HP, Kuo PH, Liu CC, Wang JR.  
Respiratory viral infections among pediatric inpatients and outpatients in Taiwan from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol.* 2001 Jan;39(1):111-8.
207. Tsolia MN, Kafetzis D, Danelatou K, Astral H, Kallergi K, Spyridis P, Karpathios TE.  
Epidemiology of respiratory syncytial virus bronchiolitis in hospitalized infants in Greece.  
*Eur J Epidemiol.* 2003;18(1):55-61.
208. Tuffaha A, Gern JE, Lemanske RF Jr.  
The role of respiratory viruses in acute and chronic asthma.  
*Clin Chest Med.* 2000 Jun;21(2):289-300.
209. TYRRELL DA, BYNOE ML.  
Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures.  
*Br Med J.* 1965 Jun 5;5448:1467-70.
210. Tyrrell DA.  
Hot news on the common cold.  
*Annu Rev Microbiol.* 1988;42:35-47.
211. Tyrrell DA, Cohen S, Schlarb JE.  
Signs and symptoms in common colds.  
*Epidemiol Infect.* 1993 Aug;111(1):143-56.
212. Turner RB.  
Epidemiology, pathogenesis, and treatment of the common cold.  
*Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997 Jun;78(6):531-9; quiz 539-40.
213. Ukkonen P, Hovi T, von Bonsdorff CH, Saikku P, Penttinen K.  
Age-specific prevalence of complement-fixing antibodies to sixteen viral antigens: a computer analysis of 58,500 patients covering a period of eight years. *J Med Virol.* 1984;13(2):131-48.
214. Uzelac-Keserovic B, Spasic P, Bojanic N, Dimitrijevic J, Lako B, Lepsanovic Z, Kuljic-Kapulica N, Vasic D, Apostolov K.  
Isolation of a coronavirus from kidney biopsies of endemic Balkan nephropathy patients.  
*Nephron.* 1999 Feb;81(2):141-5.
215. Uzelac-Keserovic B, Vasic D, Ikonovski J, Bojanic N, Apostolov K.  
Isolation of a coronavirus from urinary tract tumours of endemic Balkan nephropathy patients.  
*Nephron.* 2000 Sep;86(1):93-4.
216. Vabret A, Brouard J, Petitjean J, Eugene-Ruellan G, Freymuth F.  
Human coronavirus infections: importance and diagnosis.  
*Presse Med.* 1998 Nov 14;27(35):1813-7.

217. Vabret A, Mouton F, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F.  
Direct diagnosis of human respiratory coronaviruses 229E and OC43 by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods*. 2001 Sep;97(1-2):59-66.
218. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F.  
An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis*. 2003 Apr 15;36(8):985-9. Epub 2003 Apr 04.
219. Van Lierde S, Corbeel L, Eggermont E.  
Clinical and laboratory findings in children with adenovirus infections. *Eur J Pediatr*. 1989 Feb;148(5):423-5.
220. van Marle G, Luytjes W, van der Most RG, van der Straaten T, Spaan WJ.  
Regulation of coronavirus mRNA transcription. *J Virol*. 1995 Dec;69(12):7851-6.
221. Vicente D, Montes M, Cilla G, Perez-Yarza EG, Perez-Trallero E.  
Hospitalization for respiratory syncytial virus in the paediatric population in Spain. *Epidemiol Infect*. 2003 Oct;131(2):867-72.
222. Vuorinen T, Meurman O.  
Enzyme immunoassays for detection of IgG and IgM antibodies to parainfluenza types 1, 2 and 3. *J Virol Methods*. 1989 Jan;23(1):63-70.
223. Wadell G, Allard A, Hierholzer JC.  
Adenoviruses, p. 970-982. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 7<sup>th</sup> edition. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (ed.). American Society for Microbiology, Washington D.C. 1999.
224. Walsh EE, Falsey AR, Hennessey PA.  
Respiratory syncytial and other virus infections in persons with chronic cardiopulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Sep;160(3):791-5.
225. Waner JL.  
Mixed viral infections: detection and management. *Clin Microbiol Rev*. 1994 Apr;7(2):143-51.
226. Wang G, Deering C, Macke M, Shao J, Burns R, Blau DM, Holmes KV, Davidson BL, Perlman S, McCray PB Jr.  
Human coronavirus 229E infects polarized airway epithelia from the apical surface. *J Virol*. 2000 Oct;74(19):9234-9.
227. Waris M, Meurman O, Mufson MA, Ruuskanen O, Halonen P.  
Shedding of infectious virus and virus antigen during acute infection with respiratory syncytial virus. *J Med Virol*. 1992 Oct;38(2):111-6.
228. Wat D.  
Impact of respiratory viral infections on cystic fibrosis. *Postgrad Med J*. 2003 Apr;79(930):201-3.
229. Weigl JA, Puppe W, Grondahl B, Schmitt HJ.  
Epidemiological investigation of nine respiratory pathogens in hospitalized children in Germany using multiplex reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000 May;19(5):336-43.
230. Weigl JA, Puppe W, Schmitt HJ.  
Seasonality of respiratory syncytial virus-positive hospitalizations in children in Kiel, Germany, over a 7-year period. *Infection*. 2002 Aug;30(4):186-92.
231. Welliver RC.  
Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses. *Pediatr Infect Dis J*. 2003 Feb;22(2 Suppl):S6-10; discussion S10-2.
232. Wentworth DE, Holmes KV.  
Molecular determinants of species specificity in the coronavirus receptor aminopeptidase N (CD13): influence of N-linked glycosylation. *J Virol*. 2001 Oct;75(20):9741-52.
233. Wenzel RP, Hendley JO, Davies JA, Gwaltney JM Jr.  
Coronavirus infections in military recruits. Three-year study with coronavirus strains OC43 and 229E. *Am Rev Respir Dis*. 1974 Jun;109(6):621-4.
234. Whimbey E, Englund JA, Couch RB.  
Community respiratory virus infections in immunocompromised patients with cancer. *Am J Med*. 1997 Mar 17;102(3A):10-8; discussion 25-6.
235. Winther B, Gwaltney JM Jr, Mygind N, Hendley JO.  
Viral-induced rhinitis. *Am J Rhinol*. 1998 Jan-Feb;12(1):17-20.
236. Wiselka MJ, Kent J, Cookson JB, Nicholson KG.  
Impact of respiratory virus infection in patients with chronic chest disease. *Epidemiol Infect*. 1993 Oct;111(2):337-46.

237. Wright AL, Taussig LM, Ray CG, Harrison HR, Holberg CJ.  
The Tucson Children's Respiratory Study. II. Lower respiratory tract illness in the first year of life.  
Am J Epidemiol. 1989 Jun;129(6):1232-46.
238. Yeager CL, Ashmun RA, Williams RK, Cardellichio CB, Shapiro LH, Look AT, Holmes KV.  
Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229E.  
Nature. 1992 Jun 4;357(6377):420-2.
239. Yun BY, Kim MR, Park JY, Choi EH, Lee HJ, Yun CK.  
Viral etiology and epidemiology of acute lower respiratory tract infections in Korean children.  
Pediatr Infect Dis J. 1995 Dec;14(12):1054-9.
240. Ziebuhr J, Heusipp G, Siddell SG.  
Biosynthesis, purification, and characterization of the human coronavirus 229E 3C-like proteinase.  
J Virol. 1997 May;71(5):3992-7.

## **Curriculum Vitae**

### **Zur Person**

#### **Rozée, Bernhard Jean-Claude**

geboren am 08.04.1970

in Berlin-Neukölln

französische Staatsangehörigkeit

verheiratet, 2 Kinder

### **Lebenslauf**

#### **Schulausbildung**

1976-1978	Grundschule 1 des Main-Kinzig-Kreises, Maintal 2
1978-1980	Theodor-Heuss-Grundschule, München
1980-1989	Werner-von-Siemens-Gymnasium, München
1989	Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

#### **Hochschulstudium**

seit Okt. 1990	Studium der Humanmedizin an der Ludwigs-Maximilians-Universität München
Sept. 1992	Ärztliche Vorprüfung (Note: gut)
April 1994	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)
April 1996	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)
April 1997	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut, Gesamtnote: gut)
Aug. 1995	1. Amerikanisches Staatsexamen



## **Berufliche Weiterbildung**

Sept. 1993	Famulatur am Kreiskrankenhaus München-Perlach in der chirurgischen Abteilung
Okt. 1993	Famulatur am Porter Memorial Hospital, Denver, Colorado, im Bereich der Notfall-Medizin
Sept. 1994	Praxis-Famulatur bei Dr. med. Robert Lovas, München, im Bereich der Ästhetisch-plastischen Chirurgie
Okt. 1994	Famulatur am Kreiskrankenhaus München-Perlach in der Abteilung für Innere Medizin
April 96 – April 97	Praktisches Jahr: Wahlfach HNO am Klinikum Grosshadern, München Innere Medizin am Kantonsspital Liestal, Schweiz Chirurgie am Klinikum Augsburg
1. Juni 97 – 30. Juni 97	AiP Chirurgische Abteilung KKH Ebersberg
1. Juli 97 – 31. Dez. 98	AiP I. Chirurgische Klinik am Klinikum Augsburg
1. Jan. 99 – 31. Okt. 03	Assistenzarzt der I. Chirurgischen Klinik unter der Leitung von Prof. Löprecht
Rotation in den chirurgischen Kliniken vom 1. Jan. 99 – 31. Okt. 03:	
1. Jan. 98 – 31. März 00	II. Chirurgische Klinik, Chefarzt Prof. Witte
1. April 00 – 30. Juni 01	III. Chirurgische Klinik, Chefarzt Prof. Rüter
1. Juli 01 – 30. Sept. 01	Handchirurgische Abteilung der III. Chirurgischen Klinik, Leiter Oberarzt Dr. Rudzky
1. Okt. 01 – 31. März 02	II. Chirurgische Klinik, Chefarzt Prof. Witte
1. April 02 – 30. Sept. 02	Intensivstation der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Chefarzt Prof. Forst
1. Okt. 02 – 31. März 03	Thoraxchirurgische Abteilung der I. Chirurgischen Klinik, Leiter Oberarzt Dr. Lampl
1. April 03 – 31. Okt. 03	I. Chirurgische Klinik, Chefarzt Prof. Löprecht
Nov. 03 – Dez. 03	Hospitation Klinik für Handchirurgie, Prof. Lanz, Bad Neustadt/Saale

seit 01. Jan. 04

Weiterbildung zur Zusatzbezeichnung Handchirurgie,  
Handchirurgie der III. Chirurgischen Klinik,  
Prof. Dr. med. E. Mayr, Klinikum Augsburg

## **Facharzt**

Aug. 2003

Facharzt für Chirurgie (Bayerische  
Landesärztekammer)

## **Promotionsarbeit**

Ort:

Haunersche Kinderklinik der Ludwigs-Maximilians-  
Universität München

Thema:

Charakterisierung von Coronavirusinfektionen Typ  
229E und Untersuchung der Beteiligung von  
Parainfluenzavirus 1-3, Respiratory Syncytial Virus  
und Adenovirus bei Kindern mit akuten  
Atemwegserkrankungen

## **Vortrag Promotionsarbeit**

28. April 2006:

14. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für  
Pädiatrische Infektiologie 27.-29. April 2006 in  
München.

Thema: „Untersuchung zur Rolle von Humanen  
Coronavirus Typ 229E (HCoV 229E) Infektionen bei  
akuten Erkrankungen des Respirationstraktes im  
Kindesalter“

## **Weitere Vorträge**

29. April 2005	18. AO-Seminar für Leitendes OP-Personal Thema: „Distaler Radius: Im Röntgen ist alles zu sehen oder war da noch was?“
05. Oktober 2005	Unfallchirurgischer Mittwoch, Klinikum Augsburg Thema: „Die distale Radiusfraktur“
27. Januar 2006	BDC Weiterbildungsseminar Unfallchirurgie Thema: „Tips und Tricks bei der Versorgung kleiner Handverletzungen“
07. März 2006	BDC Weiterbildungsseminar Chirurgie 06-10. März 2006, Klinikum Augsburg Thema: „Distale Radiusfrakturen“
15. Juli 2006	17. Münchner Handchirurgisches Symposium am 15. Juli 2006 Thema: „Rhizarthrose“

## **Berufliche Nebentätigkeit:**

1993 - 1996	Tätigkeit als Nachtwache am Kreiskrankenhaus München-Perlach
1999 - 2000	Unterricht an der Berufsfachschule für Krankenpflege im Fach Allgemein- und Visceralchirurgie
seit 2000	Unterricht an der Berufsfachschule für Physiotherapie im Fach Physiologie
seit 2002	Unterricht an der Berufsfachschule für Physiotherapie im Fach Handchirurgie
2003	Unterricht an der Berufsfachschule für Krankenpflege im Fach Thoraxchirurgie

## Danke

an meine Doktormutter für die freundliche und umfassende Betreuung,  
an meine geliebte Frau für die liebevolle und ausdauernde Unterstützung,  
an meine Eltern und meine Schwiegermutter für Ihr Vertrauen,  
an das Viruslabor der Hauserschen Kinderklinik  
sowie an das Max-von-Pettenkofer-Institut  
für die Bereitstellung der Materialien und Räumlichkeiten  
sowie an alle anderen Personen, die mich tatkräftig unterstützt haben.